

METHOD AND COMPOSITIONS FOR TREATING LATE PHASE ALLERGIC REACTIONS AND INFLAMMATORY DISEASES**Patent number:** JP2001511439T**Publication date:** 2001-08-14**Inventor:****Applicant:****Classification:**






- international: A61K31/727; A61P11/00; A61P11/02; A61P13/12;
A61P17/00; A61K9/08; A61K9/10; A61K9/12; A61K9/14;
A61K9/20; A61K9/48; A61P9/00; A61P27/14;
A61P29/00; A61P37/08; A61P43/00

- european: A61K9/00M20B; A61K9/12; A61K31/727

Application number: JP20000504840T 19980804

Priority number(s): US19970904565 19970804; WO1998US16111
19980804

Also published as:

 WO9906025 (A
 EP1003479 (A1
 EP1003479 (A4
 CA2298445 (A1
 RU2209624 (C2

Report a data error here

Abstract not available for JP2001511439T

Abstract of corresponding document: **WO9906025**

A method of treating a mammalian patient suffering from or prone to a condition characterized by late phase allergic reactions, airway hyperresponsiveness or inflammatory reactions, e.g., asthma, allergic rhinitis, allergic dermatitis, allergic conjunctivitis, inflammatory bowel disease or rheumatoid arthritis, comprising the administration to the patient of an oral, parenteral, intrabronchial, topical, intranasal or intraocular pharmaceutical composition containing in each dose about 0.005 to about 1.0 mg per kilogram of patient body weight of ultra-low molecular weight heparins (ULMWH) or other sulfated polysaccharide having average molecular weights of about 1,000-3,000 daltons. Suitable inhalant and other pharmaceutical compositions for use in the novel treatment method are also disclosed.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-511439

(P2001-511439A)

(43) 公表日 平成13年8月14日 (2001.8.14)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
A 6 1 K 31/727		A 6 1 K 31/727	4 C 0 7 6
9/08		9/08	4 C 0 8 6
9/10		9/10	
9/12		9/12	
9/14		9/14	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 66 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2000-504840 (P2000-504840)	(71) 出願人	ベーカー ノートン ファーマシューティ カルズ インコーポレイテッド Baker Norton Pharma ceuticals, Inc. アメリカ合衆国、フロリダ州 33137- 3227、マイアミ、ビスケイン プールバー ド 4400
(86) (22) 出願日	平成10年8月4日 (1998.8.4)	(72) 発明者	アーメド、ターイアー アメリカ合衆国、フロリダ州 33134、コ ーラル ゲーブルズ、サウス グリーンウ エイ ドライブ 1020
(85) 翻訳文提出日	平成12年2月4日 (2000.2.4)	(74) 代理人	弁理士 武石 靖彦 (外2名)
(86) 国際出願番号	PCT/US98/16111		
(87) 国際公開番号	WO99/06025		
(87) 国際公開日	平成11年2月11日 (1999.2.11)		
(31) 優先権主張番号	08/904, 565		
(32) 優先日	平成9年8月4日 (1997.8.4)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 後期アレルギー反応及び炎症性疾患を治療するための方法と組成物

(57) 【要約】

後期アレルギー反応及び炎症性疾患を治療するための方法と組成物を提供する。

【解決手段】 後期アレルギー反応、気道の応答亢進または炎症性反応により特徴付けられる症状、例えば、喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、アレルギー性結膜炎、炎症性腸疾患またはリウマチ様関節炎にかかっているか又はかかりやすい哺乳類の患者の治療方法であって、当該方法では、平均分子量が約1,000~3,000ダルトンの超低分子量のヘパリン類 (ULMWH) 又は他の硫酸化多糖を、患者の体重1kg当たり約0.005~約1.0mgを各一回服用量として含有する経口、非経口、気管支内、局所、鼻腔内または眼内用医薬組成物を患者に投与することを含む。また、上記の新規な治療方法に用いるのに適した吸入用などの医薬組成物も開示されている。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 後期アレルギー反応、気道応答亢進または炎症性反応により特徴付けられる症状にかかっているか又はかかりやすい哺乳類患者を治療する方法であって、当該方法が、患者の体重1kg当り約0.005～約1.0mgの超低分子量ヘパリン類（ULMWH）を各一回服用量中に含有する医薬組成物を、患者に投与することを含み、前記ULMWHが約1,000～約3,000ダルトンの平均分子量を有することを特徴とする方法。

【請求項2】 前記ULMWHが、約1,000～約2,500ダルトンの平均分子量を有することを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記ULMWHが、四糖類、五糖類、六糖類、七糖類、八糖類および十糖類からなる群から選択されるヘパリン画分ならびにその医薬として許容される塩類を含んでいることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項4】 前記ULMWHがN-硫酸化されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項5】 前記組成物が、前記ULMWHを、一回服用量につき1kg当り約0.075～約0.75mg含有していることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項6】 前記ULMWHが抗凝固活性を実質的に有していないことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項7】 前記組成物が、経口、非経口、局所、気管支内、鼻腔内または眼内の経路で投与されることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項8】 前記非経口投与が、静脈内または筋肉内投与であることを特徴とする請求項7に記載の方法。

【請求項9】 前記症状が、肺の後期反応、鼻の後期反応、皮膚の後期反応、眼の後期反応および全身の後期反応からなる群から選択される後期アレルギー反応により特徴付けられるものであることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項10】 前記後期反応が肺の後期反応であることを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項11】 前記症状が後期喘息であることを特徴とする請求項10に記載

の方法。

【請求項12】 前記症状が、気道の応答亢進により特徴付けられる非喘息症状であることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項13】 前記症状が、慢性気管支炎、気腫およびのう胞性線維症からなる群から選択されたものであることを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項14】 前記症状が炎症性反応により特徴付けられるものであることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項15】 前記症状が、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、アレルギー性結膜炎、炎症性腸疾患、リウマチ様関節炎、膠原血管病、糸球体腎炎、炎症性皮膚疾患およびサルコイドーシスからなる群から選択されたものであることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項16】 前記組成物が、医薬として許容できる水性の液体吸入媒体中の、前記ULMWHの溶液または懸濁液で構成されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項17】 前記媒体が、等張食塩水または静菌水であることを特徴とする請求項16に記載の方法。

【請求項18】 前記組成物が、ポンプまたはスキーズ作動の噴霧器によって投与されることを特徴とする請求項16に記載の方法。

【請求項19】 前記ULMWHの約0.05～1.0mg/kgの一回服用量を提供するのに十分な量の前記組成物を患者に投与することを特徴とする請求項16に記載の方法。

【請求項20】 前記組成物が約0.75～15.0mg/mlの前記ULMWHを含有していることを特徴とする請求項16に記載の方法。

【請求項21】 前記組成物が、エアゾール噴射剤を含有するエアゾール組成物であることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項22】 前記組成物が、計量服用量吸入器によって投薬されることを特徴とする請求項21に記載の方法。

【請求項23】 前記ULMWHの約0.005～0.1mg/kgの一回服用量を提供するのに十分な量の前記組成物を患者に投与することを特徴とする請求

項21に記載の方法。

【請求項24】 前記組成物が約2.2～88 μ g/ μ lの前記ULMWHを含有していることを特徴とする請求項21に記載の方法。

【請求項25】 前記組成物が、気管支内投与を許容される不活性粉末と混合された前記ULMWHの粉末製剤で構成されていることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項26】 前記不活性粉末がラクトースであることを特徴とする請求項25に記載の方法。

【請求項27】 前記組成物をエアゾールディスペンサーによって投与することを特徴とする請求項25に記載の方法。

【請求項28】 前記組成物を破断可能なカプセルから投与することを特徴とする請求項25に記載の方法。

【請求項29】 前記組成物を、アレルギー反応誘発抗原による投与の前に、患者に投与することを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項30】 前記組成物を、アレルギー反応誘発抗原による投与に続いて、患者に投与することを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項31】 後期アレルギー反応、気道応答亢進または炎症性反応により特徴付けられる症状にかかっているか又はかかりやすい哺乳類の患者を治療するための医薬組成物であって、当該組成物が、医薬として許容できる吸入、経口、非経口、局所、鼻腔内または眼内用の媒体内に、ULMWHを、各一回服用量として、患者の体重1kg当たり約0.005～1.0mg含有しており、前記ULMWHが約1,000～約3,000ダルトンの平均分子量を有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項32】 前記ULMWHが約1,000～約2,500ダルトンの平均分子量を有することを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項33】 前記ULMWHが、四糖類、五糖類、六糖類、七糖類、八糖類および十糖類からなる群から選択されるヘパリン画分ならびにその医薬として許容される塩類を含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項34】 前記ULMWHがN-硫酸化されていることを特徴とする請求

項31に記載の組成物。

【請求項35】 一回服用量につき、1kg当たり約0.075～約0.75mgの前記ULMWHを含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項36】 組成物1ml当たり約1.0～約20.0mgの前記ULMWHを含有することを特徴とする請求項31に記載の液体または流体組成物。

【請求項37】 前記ULMWHが抗凝固活性を実質的に有していないことを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項38】 医薬として許容される水性吸入媒体中の前記ULMWHの溶液で構成されていることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項39】 前記媒体が等張食塩水または静菌水であることを特徴とする請求項38に記載の組成物。

【請求項40】 ポンプまたはスキーズ作動噴霧器によって投与するのに適したものであることを特徴とする請求項38に記載の組成物。

【請求項41】 さらにエアゾール噴射剤を含有し、かつ計量エアゾール服用吸入器によって投与するのに適したものであることを特徴とする請求項38に記載の組成物。

【請求項42】 気管支内投与に許容可能な不活性粉末と混合された前記ULMWHの粉末製剤で構成されていることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項43】 前記不活性粉末がラクトースであることを特徴とする請求項42に記載の組成物。

【請求項44】 前記組成物が、エアゾールディスペンサーによって投与されることを特徴とする請求項42に記載の組成物。

【請求項45】 前記組成物が、破断可能なカプセルから投与されることを特徴とする請求項42に記載の組成物。

【請求項46】 医薬として許容可能な経口媒体を含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項47】 錠剤、カプセル剤、カプレット剤、ゲルキャップ剤、丸剤、液体溶液剤、懸濁剤もしくはエリキシル剤、粉末薬、トローチ剤、微粉末化粒子お

よび浸透圧送達システムからなる群から選択される経口剤形であることを特徴とする請求項46に記載の組成物。

【請求項48】 さらに、賦形剤、媒体、充填剤、結合剤、崩壊剤、溶媒、可溶化剤、甘味剤または着色剤を含有することを特徴とする請求項47に記載の組成物。

【請求項49】 医薬として許容可能な非経口媒体を含有することを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項50】 前記媒体が等張食塩溶液またはデキストロース溶液を含有していることを特徴とする請求項49に記載の組成物。

【請求項51】 静脈内投与に適していることを特徴とする請求項49に記載の組成物。

【請求項52】 筋肉内投与に適していることを特徴とする請求項49に記載の組成物。

【請求項53】 医薬として許容可能な局所用媒体を含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項54】 医薬として許容可能な鼻腔内用媒体を含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項55】 医薬として許容可能な眼内用媒体を含有していることを特徴とする請求項31に記載の組成物。

【請求項56】 後期アレルギー反応、気道応答亢進または炎症性反応により特徴付けられる症状にかかっているか又はかかりやすい哺乳類の患者の治療方法であって、当該方法が、患者の体重1kg当たり約0.005～約1.0mgの硫酸化多糖類を一回服用量中に含有する医薬組成物を、患者に投与することを含み、前記硫酸化多糖類が、約1,000～約3,000ダルトンの平均分子量を有することを特徴とする方法。

【請求項57】 前記硫酸化多糖類が、グリコサミノグリカン類またはムコ多糖類由来の多糖類であることを特徴とする請求項56に記載の方法。

【請求項58】 前記硫酸化多糖類が、ヘパリン、ヘパラン硫酸、デルマチン硫酸、コンドロイチン硫酸またはペントサンポリサルフェート由来の多糖類である

ことを特徴とする請求項57に記載の方法。

【請求項59】 前記硫酸化多糖類が、四糖類、五糖類、六糖類、七糖類、八糖類および十糖類ならびにその医薬として許容できる塩を含有していることを特徴とする請求項56に記載の方法。

【請求項60】 前記硫酸化多糖類が四糖類を含有していることを特徴とする請求項59に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の分野】

本発明は、後期アレルギー反応(late phase allergic reactions) および炎症性疾患の症状と発現の予防と改善を行う方法と組成物に関するものである。

【0002】

【従来技術の説明】

慢性喘息は、大部分が、関連する気管支けいれんによる炎症性疾患であると考えられている。刺激に応答する気管支の反応度と狭窄度は、正常な個体より喘息患者の方が大きい。持続性炎症は、気管支の反応亢進または気道の応答亢進(AHR, airway hyperresponsiveness)の原因である。粘膜水腫、粘液栓および分泌過多が見られるが、肺実質は正常である。気道の狭窄は、自然に改善するかまたは治療によって改善する。1型(即時)免疫応答は、小児および多くの成人の喘息の発生に重要な役割を演じているかもしれないが、疾患が成人期に発現すると、アレルギー因子は確認することが困難なこともある。冷たい乾燥した空気にさらされることや、運動や他の病気を悪化させる要因も、喘息の原因となることがある。

【0003】

喘息の薬物療法の一般目標は、気管支けいれんの予防と、気管支の反応亢進の長期間抑制である。患者または医師は、気管支けいれんがいつ起こるか予想することは通常、不可能であるので、最も多い一時的なおよび/または全く季節的な発作を起こす患者以外の患者はすべて、連続的な治療を行う必要がある。

【0004】

β 作用薬は気管支拡張薬として有用である。すなわち β 作用薬は、 β_2 アドレナリン作動性受容体を刺激し、細胞内cAMPを増大させ、マスト細胞のメディエータの放出を阻害する。他の有用な薬物としては、テオフィリンと類縁のキサンチン薬物(未知の機序で気管支拡張を起こす)；ビスクロモン(biscromone)のクロモリン(メディエータ物質の放出を防ぎかつ呼吸神経反射を遮断する)；およびコルチコステロイド類(主として炎症と水腫を減らす)がある。抗コリン作

動性薬物は、副交感神経コリン性インパルスを受容体レベルで遮断することによって、気管支けいれんを軽減することもある。抗ヒスタミン剤は、特に小児のアレルギー性喘息のエピソードを予防または進行を止めることがあるが、ヒスタミンは多数のメディエータのうちの一つに過ぎないので、喘息には部分的にしか有効でない。

【0005】

アレルギー誘発喘息の治療に現在利用されている薬物使用方式には多くの欠点がある。一般に、従来の薬物は、作用期間が比較的短く、抗原投与（攻撃）が起こった後に投与した場合、部分的に有効か完全に無効である場合がある。更に、 β_2 アドレナリン作動性作用薬類およびコルチコステロイド類などの薬物を使用すると重篤な副作用があるので、これら薬物で治療する場合の安全性の余裕は比較的小さく、これら薬物を使用する患者は注意深く監視しなければならない。

【0006】

気管支の反応亢進（またはAHR）は喘息の顕著な特徴であり、根底にある気道の炎症と密接に関連している。喘息や気道の炎症が悪化するのには、抗原および非抗原両者の刺激により誘発される気管支の反応亢進の増大に関連がある。 β_2 アドレナリン作動性作用薬は、気管支けいれんの強力な治療薬であるが、気道の炎症または気管支の反応亢進に対しては全く効果がない。事実、 β_2 アドレナリン作動性薬を単独で長期間使用すると、 β_2 受容体がダウンレギュレートされ、気管支の反応亢進が悪化する。現在、コルチコステロイド類が、気管支の反応亢進を低下させる、入手可能で有効な唯一の薬物である。吸入用のコルチコステロイド類は、成人の喘息患者の場合、比較的安全であるが、これらの薬物は、小児の場合、副腎の抑圧および骨の密度や成長の低下を含む著しい毒性がある。したがって、気管支の反応亢進を低下させるより安全で有効な薬物の探求が続けられている。

【0007】

アレルギー喘息の患者は、特異的抗原を吸入して攻撃を受けると、少なくとも2種のパターンの気管支応答を示す。大部分の患者は急性の気管支収縮応答だけを起こし、これは1～3時間以内に自然に消退する。これらの患者は“急性応答動

物(acute responders)”と呼ばれている。しかし少数の患者は早期応答と後期応答の両方を起こす。これらの患者は“二重応答動物(dual responders)”と呼ばれている。二重応答動物の場合、急性応答は自然に消退し、続いて4～12時間後に気道抵抗の二次増大(“後期応答(late phase response)”)が起こる。後期応答と、したがって二重応答動物は、長期間の気道の反応亢進または応答亢進(AHR)を伴うので臨床的に重大であり、症状が悪化して一般により悪い形態の臨床的喘息になり、強力な治療が必要になる。

【0008】

アレルギー性動物の薬理学的研究によって、気管支収縮応答のみならず、炎症細胞の流入とメディエータ放出のパターンが、二重応答動物と急性応答動物とは全く異なることが確認されている。ヒスタミンは、急性期中の気管支収縮のメディエータである可能性が高いが、リポキシゲナーゼ経路の活性化された産物(すなわちロイコトリエン類)が、後期反応に関与している主要メディエータである。しかしながら、マスト細胞は、IgEによるアレルギー性気道応答で中心的な役割をはたしているので、クロモリンナトリウム(マスト細胞の細胞膜安定剤)は、理論上、“急性”応答動物と“二重”応答動物の両方の気管支収縮応答を防止するはずである。マスト細胞サブタイプの不均一性が開散応答(divergent response)に有意な役割を演じているかもしれない、それはシグナル形質導入(signal transduction)(第二のメッセンジャーシステム)の差によって決まるのかもしれない。

【0009】

気管支内に投与されたヘパリンは、気管支けいれんおよび気管支収縮の有効な阻害剤であるので、喘息の予防に価値があることが過去数年間に発見された(例えば、Ahmedら、New Eng. J. Med.、329巻、90～95頁1993年；Ahmed、Resp. Drug. Deliv.、第IV巻、55～63頁1994年参照)。更に、低分子量のヘパリン類、例えば平均分子量が4,000～5,000ダルトンのヘパリンが、抗原が誘発する気管支収縮を有効に防止することが発見された。また、これら低分子量のヘパリン類は、市販のヘパリンより抗凝固活性がかなり小さく、このことは、これらの薬物が喘息の治療で使用される場合に望ましい特性である(Ashkinら、Am. Re

v. Resp. Dis.、1993年、Intl. Conf. Abstracts、A660頁参照)。しかし、市販のヘパリンと低分子量のヘパリンの両者は、患者が抗原に暴露された後に投与された場合、AHRを抑圧する効果がない。

【0010】

我々は、親出願である米国特許願第08/516,786号において、平均分子量が約3,000ダルトン未満の超低分子量のヘパリン(ULMWH)が、患者が抗原の攻撃を受けた後に投与された場合でも、急性喘息応答動物のAHRを抑圧するのに有効であることを開示した。しかし、実験と臨床の試験は、市販のヘパリンを吸引させると、急性応答動物の早期抗原誘発気管支収縮が減衰するとはいえ(抗原投与(antigen challenge)後にはこの収縮は減衰しない)、二重応答動物を治療する場合には効果的でないことを示した。したがって、ULMWHが、急性の応答動物の場合に有効性を示すのと同様に、二重応答動物すなわち後期応答動物を治療する際に有効性を示すのかどうかについて、ULMWHに関する我々の初期の研究の後に、まだかなりの疑いがあった。

【0011】

二重応答動物である喘息患者に対する現在の通常行われる治療方式は、一般的に、先に述べたように、急性応答動物に実施されている治療の、より強力で長期間にわたる変形である。しかしながら、これらの治療は、先に述べたように、AHRを抑制するのに特に有効なわけではなく、それら治療の作用期間が一般に短いため、二重応答動物に見られる後期反応とAHRを防ぐことができない。

【0012】

しかしながら、気道は、後期反応(LPR, late phase reactions)によって影響を受ける器官または組織の代表的なものであるに過ぎないことに注目すべきである。二重応答動物の喘息患者に見られる後期の気管支収縮とAHRは、喘息の症状または肺の症状に限定される孤立した現象ではないということは医学文献に実証されている。肺におけるLPRの発現に加えて、皮膚、鼻腔、眼および全身でのLPRの発現がある。これらのアレルギー性LPR現象は、免疫学的機序の観点から、密接に関連していると考えられている(「Allergies, Principles and Practice」(第4版、1997年、Mosby Yearbook, Inc.)に発表されたLemanske

とKaliner の報告 “Late Phase Allergic Reactions ” 参照)。LPRの機序の最新の解釈によれば、アレルギー機序を伴うことがみとめられた臨床疾患は（皮膚、肺、鼻腔、眼などの器官のいかににかかわらず）、組織学的な炎症要素を有し、その要素は、抗原投与を受けて即座にアレルギー反応または過敏反応を起こすようである。この一連の応答は、マスト細胞のメディエータに接続され、標的器官内の他の常在細胞によって、またはマスト細胞の部位に補充された（recruit）細胞もしくは好塩基球の脱顆粒によって、伝播されるようである。各種のアレルギー疾患および喘息に対処するのに大いに役立つことが立証されているコルチコステロイド類は、これら疾患の炎症プロセスを減衰することができるので有益である。

【0013】

さらに、炎症応答が重要な役割を演じる肺以外の疾患があり、例えば炎症性腸疾患、リウマチ様関節炎、糸球体腎炎、および炎症性皮膚疾患がある。また、これらの症状は抗炎症薬で治療されることが多いが、この薬剤は、ステロイド系および非ステロイド系の抗炎症薬と同様に、全身または胃腸に対する副作用を起こすことが多い。

後期のアレルギー反応および炎症性疾患に対する改善された医薬品による治療法が要求されている。

【0014】

【発明の要約】

本発明の目的は、後期のアレルギー反応または炎症性反応を特徴とする症状を治療する一層有効でかつ安全な方法と組成物を提供することである。

本発明の他の目的は、従来技術の欠点を有しない、抗原誘発性の後期の喘息と気管支反応亢進を治療する方法と組成物を提供することである。

【0015】

本発明のさらに他の目的は、後期喘息の発現を防止および消退させるのに有効な、喘息の二重応答動物を治療する方法および組成物を提供することである。

本発明のさらに他の目的は、患者に対して抗原投与があった後に投与した場合でも、特異的なおよび非特異的な気管支の反応亢進を低下させるのに著しく有効な

上記方法と組成物を提供することである。

【0016】

これらの目的と他の目的は以下の説明で明らかになるが、その目的を達成するため、本発明は、例えば、肺、鼻腔、皮膚、眼および全身のLPRを含む後期アレルギー反応、または炎症性反応によって特徴付けられる症状が見られる哺乳類の患者に、患者の体重1kg当たり約0.005mg～約1.0mgの超低分子量ヘパリン類(ULMWH)を各一回服用量として含有する医薬組成物を、気管支内、経口、局所、非経口、鼻腔内または眼内に投与することにより治療する方法に関する。これらのヘパリン類の投与は、例えば抗原投与に続いて行われる急性ベースまたは喘息患者の気管支の反応亢進などの炎症性反応を抑圧する長期間ベースでもよい。

【0017】

本発明の方法で有効なULMWHは、平均分子量が約1,000～約3,000ダルトンであり、かつ低レベルの抗凝固活性を示すかまたは抗凝固活性をほとんど示さない。例えば、適切な濃度の上記ULMWHを含有する液体または粉末のネブライザーまたはエアゾールの組成物の形態の吸入(気管支)組成物を含む新規な医薬組成物が提供される。

【0018】

【発明の実施の形態】

本発明は、一般に、後期アレルギー反応および/または炎症性反応を特徴とする疾患が見られるか又はその疾患を発生しやすい哺乳類の患者の治療法、ならびに前記治療法を実施する際に使用するのに適した超低分子量のヘパリンを含有する新規な医薬組成物に関する。

【0019】

ヘパリンすなわち硫酸化ムコ多糖は、プロテオグリカンとしてマスト細胞内で合成され、各種動物の肺に特に豊富に存在している。ヘパリンは、分子量が固定した特定の化合物ではなく、実際は、D-グルコサミンおよびL-イデロン酸またはD-グルクロン酸の繰返し単位で構成された、各種の硫酸化度の硫酸化多糖連鎖の不均一な混合物である。動物の組織から単離されるヘパリンの平均分子量は

、約6,000～約30,000ダルトンの範囲内である。

【0020】

薬理学上、ヘパリンは、主として抗凝固薬として知られている。この活性は、ヘパリンが、抗トロンビンIII (AT-III) の残基のいくつかに結合して、活性化された凝固因子のAT-III による中和を促進しかつプロトロンビンのトロンビンへの変換を防止するというヘパリンの性能によって生じる。大量のヘパリンは、トロンビンと早期の凝固因子を不活性化して、フィブリノーゲンのフィブリンへの変換を防止できる。

【0021】

ヘパリンの出血活性はその多糖フラグメントの分子量に関連があり、低分子量の成分またはフラグメント (例えば、分子量が6,000ダルトン未満のフラグメント) は、中程度ないし低い抗トロンビン作用と出血作用を有している。同様に、動物の組織から単離された低分子量のヘパリンは、一般に、市販のヘパリンに比べて出血特性が低いがおおむね有意な抗凝固活性を有している。

【0022】

市販のヘパリンは、一般にウシの肺またブタの腸粘膜から抽出されるが、平均分子量は約15,000～17,500ダルトンである。

【0023】

ヘパリンは、IP₂ 受容体の特異的遮断薬として作用して、IP₂ によるカルシウムの放出を阻害することが分かっている。我々は、ヘパリンが、マスト細胞のIP₂ 受容体を遮断して、シグナル形質導入を妨害することによって、マスト細胞の脱顆粒とメディエータの放出を調節するかもしれないと以前に示唆した。生体内と生体外の試験結果は、上記概念を支持し、吸入されるヘパリンが、ヒッジのアレルギー性気管支収縮を減衰させ、運動誘発喘息を防止し、ならびに抗IgEが誘発するマスト細胞のヒスタミン放出を阻害することを立証した。1,000単位/kgまでの服用量の吸入ヘパリンは、部分トロンボプラスチン時間 (PTT) に対して全く影響せず、したがって“非抗凝固”作用を示唆していることが見いだされた。

【0024】

A P T T 活性を低下させた低分子量のヘパリン（平均分子量が約4,500ダルトン）が、動物実験で、抗原誘発気管支収縮応答（A B R）と気管支反応亢進〔気道応答亢進（A H R）とも呼称される〕を予防するのに有効であったことも報告されている。しかし、以下により詳細に考察し説明するように、市販されているヘパリンも媒体または低分子量のヘパリンも、抗凝固活性が非常に低いものでも、実験動物の抗原攻撃後のA H Rを改善には効果的ではない。これらのヘパリンは、単に予防作用があるだけで、抗原がトリガーする喘息のエピソードを治療には役立たないことは明らかである。

【0025】

我々は、超低分子量ヘパリン（U L M W H）の画分が気道過敏症の有効な阻害剤であるのみならず、抗原投与後に投与した場合でもA H Rを低下させるのに非常に有効であることを発見して、親出願の米国特許願第08/516,786号に報告した。また、U L M W Hを長年にわたって定期的に使用した場合もA H Rを低下させるので、U L M W Hは、喘息の原因が、特異的因子（すなわち抗原因子）であるか非特異的因子であるかにかかわらず、喘息の長期治療に使用することができる。

【0026】

我々の以前の出願は、急性応答動物の早期喘息を治療する際のU L M W Hの効力に関する出願であり、その効力を実証する試験データだけを開示したものにすぎず、早期と後期の両方の気管支収縮と持続性A H Rを経験している“二重応答動物”を治療した場合の効力については開示していなかった。先に考察したように、U L M W Hの投与が抗原投与の前か後であるかにかかわらず、二重応答動物の気管支収縮（早期と後期の両方）およびA H Rを阻害するのに有効であるということは、我々の先の研究結果に基づいて予測することができなかった。このように予測できなかったことは、市販のヘパリンと媒体または低分子量ヘパリン（分子量>3,000）が、抗原投与の前に投与された場合、急性応答動物のA H Rを阻害するが、二重応答動物に見られる後期の反応とA H Rを抑制する有意な作用が全くないという事実によって明らかである。

【0027】

我々は、ULMWHについてさらに管理された研究を行い、驚くべきことに、約1,000～約3,000の平均分子量を有するヘパリン画分が、抗原投与の前または抗原投与後であっても、二重応答動物が吸引すると、早期および後期の気管支収縮とAHRを抑制するのに有効であることを発見したのである。

【0028】

さらに驚くべきことには、我々は、ULMWHを、抗原投与の前に経口および静脈（または他の非経口）投与を行うと、二重応答動物の気管支収縮とAHRが有効に阻害されることを発見したのである。

【0029】

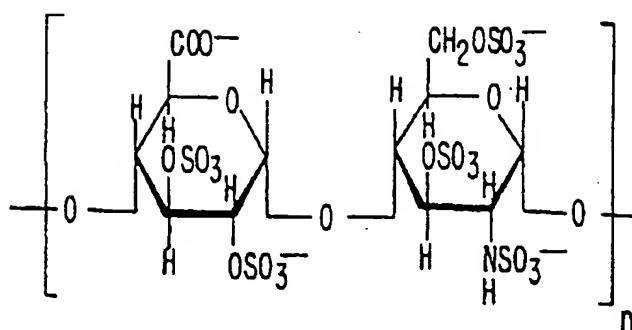
したがって、本発明は、ある側面において、二重応答動物でありかつ抗原誘発後期喘息にかかっている哺乳類の患者の治療方法であって、一種以上の有効ULMWH画分を、患者の体重1kg当り、各一回服用量として約0.005～約1.0mg含有し、好ましくは約0.075～約0.75mg/kg一回服用量を含有する医薬組成物を、抗原投与の前または後に、患者に気管支内投与することからなる治療方法を含む。本願の目的において、“有効ULMWH”とは、平均分子量が約1,000～3,000ダルトンであるヘパリン画分であると定義することができる。平均分子量が約1,000～2,500ダルトンであるULMWHは、本発明の方法で使用すると特に有効である。各ULMWH画分は、四糖類、五糖類、六糖類、七糖類、八糖類および十糖類ならびにさらに連鎖長が長い分子を含有していてもよい。

【0030】

本発明に使用されるULMWH画分は、例えば下記の一般構造式で表される硫酸化糖単位のオリゴマーである。

【0031】

【化1】



【0032】

他の生物系において、例えば細胞成長の阻害剤としてN-脱硫酸化ヘパリン類の活性が知られているにもかかわらず、本発明のために有効なULMWH画分の糖単位はすべてN-硫酸化されていて、N-脱硫酸化画分は効力がないことが見出されたのである。

【0033】

本発明の方法と組成物に使用される硫酸化多糖類は、本明細書では、超低分子量ヘパリン類と呼ばれ、すなわち天然産のヘパリンから抽出される超低分子量の画分（またはこのようなULMWHの合成品）であるが、本発明には、ヘパラン硫酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン硫酸、ペントサンポリサルフェートおよび／または他のグリコサミノグリカン類ならびにムコ多糖類由来の硫酸化多糖の使用も含まれる。しかし、課題の硫酸化多糖の画分は、平均分子量が約1,000～3,000ダルトンでなければならない。先に列挙した有効ULMMHまたは他の硫酸化多糖類の医薬として許容できる塩類、例えば、ナトリウム、カルシウムまたはカリウムの塩を使用してもよい。

【0034】

本発明のこの第一の側面によって、患者に喘息エピソードを引き起こすことが知られているタイプの抗原を吸引したか、摂取したかまたは他の方式で該抗原に接触した（すなわち抗原に攻撃された）二重応答動物であるヒトもしくは他の哺乳類の患者、または将来、抗原投与にさらされるかもしれない患者に、上記濃度範囲で漸増的に存在する一種以上の有効ULMWHを含有する医薬組成物の少なくとも一回の服用量が、吸引によって投与される。追加の服用量は、その後、抗原投与があった後、患者が正常な気流抵抗のレベルを回復または維持するまで、必

要に応じて投与してもよい。

【0035】

また、本発明には、第二の側面において、早期および後期のAHRを低下させおよび抑制するための二重応答動物の喘息患者に対する有効ULMWHの長期間の投与が含まれる。用語“長期間の投与”は、本明細書で使用する場合、有効ULMWHを含有する医薬組成物を、少なくとも10日間連続で最低1日に1回投与することを意味する。一回服用量当り約0.005~1.0mg/kgおよび好ましくは一回服用量当り約0.0075~0.075mg/kg含有する組成物の長期間投与を、無制限に続けて、少なくともコルチコステロイド類に匹敵するAHR抑制の治療効果を、実質的に副作用なしで提供することができる。

【0036】

後期喘息および他の肺症状を治療するため、本発明で使用される吸引（気管支内）ULMWH組成物としては、有効ULMWH画分を含有し、噴霧療法と気管支内での使用に適している液体または粉末の組成物、または計量された服用量を投薬するエアゾール装置によって投与されるエアゾール組成物であってよい。

【0037】

適切な液体組成物は、例えば、水性の医薬として許容できる吸入溶媒、例えば等張食塩水または静菌性水中の有効ULMWHからなる。これらの溶液は、ポンプまたはスキーズ操作による噴霧スプレイディスペンサーによってまたは他の通常の手段によって投与され、液体組成物の必要な投与量を哺乳類の患者の肺に吸入させることができる。

【0038】

適切な粉末組成物としては、例えば、気管支内投与用に許容されるラクトースまたは他の不活性粉末と十分に混合されたヘパリンの粉末製剤がある。粉末組成物は、エアゾールディスペンサーを通じて投与してもよく、または破断可能なカプセル内に入れ、それを、哺乳類の患者がそのカプセルに穴をあける装置に挿入して、粉末を吸入に適した安定した流れで吹き出させてもよい。

【0039】

課題の方法において使用されるエアゾール配合物は一般に、フッ化アルカンの噴

射剤、界面活性剤および共溶媒を含有し、そしてアルミニウムまたは通常のエアゾール容器に充填され、その容器は計量弁で閉じられ、かつ噴射剤で加圧されて、計量服用量の吸入器 (MDI, metered dose inhaler) が作製される。

【0040】

MDIなどの加圧エアゾールディスペンサーに使用するのに適切な、噴射剤中の有効ULMWHの合計濃度は、患者の体重1kg当り、投与毎に有効ULMWHの約0.005~0.1mg (5~100 μ g)の服用量を提供するため十分に高くしなければならない。したがって、例えば、MDIが一動作当り薬物含有噴射剤を約85 μ l送達する場合、体重が75kgの哺乳類患者のときの噴射剤中有効ULMWHの濃度は、約0.0045~0.088mg/ μ l (4.5~88 μ g/ μ l)であるので、単一の動作で一回服用量全体を送達したい場合、一動作当り0.375~7.5mg (375~7,500 μ g)が送達される。二回の動作で一回服用量を送達したい場合、対応する濃度範囲は約0.0022~0.044mg/ μ l (2.2~44 μ g/ μ l)であり、一動作で0.188~3.75mg (188~3,750 μ g)のULMWHが送達される。

【0041】

液体の噴霧器用溶液の有効ULMWHの合計濃度は、患者の体重1kg当り、各投与毎に有効ULMWHの約0.05~1.0mg (50~1,000 μ g)の服用量を提供するため十分に高くなければならない。したがって、例えば、利用される噴霧器が一動作で溶液5mlを送達する場合、体重75kgの哺乳類患者のときの有効ULMWHの濃度は約0.75~15.0mg/mlでなければならない。

【0042】

本発明の更に別の側面においては、有効ULMWH含有組成物は、抗原誘発後期喘息にかかっている患者すなわち二重応答動物には、その患者が抗原投与にさらされる前に、経口または非経口 (例えばIVまたはIMで) 投与される。上記経口または非経口の組成物は、各一回服用量に、患者の体重1kg当り約0.005~約1.0mgの有効ULMWHを含有している。上記経口または非経口の組成物は、抗原投与の8時間前まで (しかし好ましくは少なくとも4時間前まで)

に投与してもよく、早期および後期の気管支収縮を低下させ、かつAHRを抑制するのに有効である。

【0043】

医薬の技術分野の当業者であれば分かるように、気管支内に投与される薬物の正確に計量された服用量を投与しかつ患者の体重と患者の症状の重症度にしたがって所望の服用量を調節するのに、多くの従来の方法と装置を利用できる。さらに、本発明の気管支内用ULMWH組成物に用いるのに適したものと当該技術分野で認められている多くの液体、粉末およびエアゾールの賦形剤は数多くあり、しかも経口および非経口用のULMWH含有組成物に用いることができる医薬として許容される経口および非経口の賦形剤も数多くある。本発明は、特定の不活性な賦形剤、溶媒、担体、添加剤または剤形に限定されず、そして気管支内に投与する特別の方法または装置に限定されるものではない。

【0044】

また本発明の医薬組成物は、医薬として許容される経口、注射またはIV投与用賦形剤中、または局所もしくは眼内投与用賦形剤中に、有効ULMWHを有効成分として含有する剤形であってもよい。各剤形は、患者の平均体重1kg当たり約0.005~1.0mgの有効ULMWH（ULMWHの1種または混合物）と、医薬として許容される不活性な成分、例えば、経口投与用の医薬剤形中に普通に含有されている通常の添加剤、賦形剤、充填剤、結合剤、崩壊剤、溶媒、可溶化剤、甘味剤、着色剤などの不活性成分を含有している。適切な経口剤形としては、錠剤、カプセル剤、カプレット剤、ゲルキャップ剤、丸剤、液体溶液剤、懸濁剤もしくはエリキシル剤、粉末薬、トローチ剤、微粉化粒子および浸透圧送達システム（osmotic delivery system）がある。注射およびIVの剤形としては、適切な緩衝剤および保存剤を含有する等張食塩水またはデキストロース溶液がある。多くの適切な剤形と賦形剤およびそれらに用いる不活性成分の表は、当該技術分野でよく知られており、標準のテキストの例えばRemington's Pharmaceutical Sciences、第17版（1985年）に記載されている。

【0045】

本明細書に記載のULMWH組成物は、抗原投与の後でも、早期および後期の抗

原誘発喘息に対して非常に有効な治療をもたらし、同様に後期のアレルギー反応により特徴付けられる他の症状にも非常に有効な治療をもたらす。

【0046】

喘息の二重応答動物を治療する際に、有効ULMWHが、高分子量のヘパリン類と比べて予想外に優れていることを立証するために、抗原投与の前と後の両方の場合の二重応答動物のアレルギー性ヒツジに対する異なるヘパリン型の作用を比較する実験を行った。これらの実験と得られた実験結果の詳細な説明は、以下の諸実施例と図に示すグラフに記載してある。

【0047】

以下の諸実施例は、本発明の方法と組成物を例示しかつ該組成物の効力を実証しているが、本発明を実施するために、排他的に利用しなければならない特定の組成物、材料、手順および用量を記載することを目的とするものではない。

【0048】

【実施例】

実施例1

二重応答動物のアレルギー性ヒツジに対する吸入ULMWHの投与

方法

【0049】

肺の気流抵抗

アスカリス・スーム (Ascaris suum) の抗原に対する二重気管支収縮応答がすでに報告されているアレルギー性ヒツジを、すべての試験に使用した。前記ヒツジにカフ付き経鼻管を挿管して、肺の気流抵抗 (R_1) を、食道バルーンカテーテル法によって測定し、一方、胸腔内ガス容量を体ブレチスモグラフィで測定した。データは比 R_1 [SR_1 、 $R_1 \times$ 胸腔内ガス容量 (V_{t0}) と定義する] で表した。

【0050】

気道応答亢進

気道応答亢進を評価するため、吸入されるカルバコールに対する累積服用量-応答曲線を、緩衝食塩水を吸入する前と後および濃度を上げたカルバコール (0.

25、0.5、1.0、2.0および4.0%wt/vol溶液)を10呼吸ずつ投与した後にSR_Lを測定することによって作成した。気道応答亢進は、SR_Lを基線(ベースライン)より400%まで増大させるカルバコールの累積誘発服用量(PD₄₀₀) (呼吸単位)を確認することによって測定した。1呼吸単位は1%カルバコール溶液の1呼吸と定義した。

【0051】

ヘパリン画分

本明細書に報告した試験では、各種のヘパリン材料を、二重応答動物のアレルギー性ヒッジに、抗原投与を受ける前および/または後に投与した。これらのヘパリンのうちいくつかは、平均分子量が1,000~3,000ダルトンのULM WH画分であり、いくつかは平均分子量がこれより高い画分であり、そして一つは平均分子量がこれより小さい画分であった。試験したヘパリン画分を下記表1に示す。

【0052】

【表1】

ヘパリン画分とそれらの分子量

画 分	平均分子量	範 疇
市販ヘパリン	15,000 d	ヘパリン
Fragmin TM	5,030 d	低分子量
CY-216	4,270 d	低分子量
CY-222 ¹ (Sanofi)	2,355 d	ULMWH
FRU-70 ² (kabivitrum)	2,500 d	ULMWH
六糖の混合物 ³	1,930 d	ULMWH
八糖 ⁴	2,480 d	ULMWH
精製六糖 ⁵	1,998 d	ULMWH
精製四糖 ⁶	1,290 d	ULMWH
二糖 ⁷	660 d	サブULMWH

¹ 抗凝固剤の八糖の混合物。

² 非抗凝固剤の八糖の混合物。

³ 市販のブタヘパリン由来のオリゴ糖であって、主として四糖、六糖、八糖および十糖の画分を含有している。

⁴ 上記六糖混合物から、ゲルカラムクロマトグラフィによって得た。約70%の八糖と30%の十糖の画分を含有している。

⁵ 上記六糖混合物からゲルカラムクロマトグラフィによって得た。

⁶ 上記六糖混合物からゲルカラムクロマトグラフィによって得た。

⁷ 上記二糖を三硫酸化したが、分子量が非常に小さいので、ヘパリン様特性を有するULMWH画分とみなすことができなかった。

【0053】

実験のプロトコル

気道の試験

各動物の基線の気道応答亢進 (PD₄₀₀) を測定し、次に、異なる実験日に、ヒツジはアスカリス・スームの抗原によって気道の攻撃を受けた。SR_L を、抗原投与を受ける前と、抗原投与を受けた直後および続いて8時間、1時間毎に測定した。投与後のPD₄₀₀ を、AHRが起こる抗原投与の24時間後に測定した。実験のプロトコルは少なくとも14日後に繰り返したが、各動物は、試験ヘパリン画分のうちの1種の一回服用量を、抗原投与の約30分前または抗原投与の直後に投与されてSR_L が測定された。

【0054】

データの分析

データを以下のように表した。

【0055】

【数1】

$$(a) \text{SR}_L (\% \text{変化}) = \frac{\text{投与後のSR}_L - \text{基線のSR}_L \times 1.00}{\text{基線のSR}_L}$$

(b) PD₅₀ (呼吸単位中)

【0056】

結 果

図1は、2群のアレルギー性ヒツジ（一方の群は急性応答動物で構成され、他方の群は二重応答動物で構成されている）の抗原投与に対する異なる反応を示すものである。急性応答動物のSR_Lは抗原投与があつてから約3時間後にはほぼ基線のレベルまで戻り、そのままのレベルであつた。しかし二重応答動物の場合、約6時間の時点でSR_Lの後期ピークがあり、そのレベルは、この試験の8時間の終点を通じて基線を有意に超えたままである。この第二の後期のピークが、二重応答動物の特徴である。

【0057】

図2Aと2Bは、急性応答動物（図2A）と二重応答動物（図2B）のSR_Lに対する、市販のヘパリン吸入による抗原攻撃前の治療効果を示すものである。急性応答動物のSR_Lは、抗原投与後でも基線のレベル近傍のままであつたが、二重応答動物の早期および後期のSR_Lはともに、2,000単位/kgの量のヘパリンを投与しても、ヘパリンによる前治療で改善されなかつた。

【0058】

図3～6は、低分子量のヘパリン画分のフラグミンとCY-216が、抗原投与の前に投与したとき、二重応答動物の気管支収縮またはAHRを改善する有効性が欠如していることを示している。

【0059】

図7～10は、ULMWH CY-222（平均分子量2,355d、本発明に

よる有効ULMWHの範囲内) 吸入で前治療した場合と抗原投与後に治療した場合はともに、二重応答動物の早期および後期両方の抗原誘発気管支収縮とAHRを有意に改善するのに有効であったことを示している。

【0060】

図11~14は、早期と後期の喘息を治療する際に、ULMWH FRU-70 (平均分子量2500d) で、前治療する場合と抗原投与の後に治療する場合の有効性を示している。

【0061】

図15~22は、抗原投与後に投与しても、各種の有効ULMWH画分が、二重応答動物の気管支収縮とAHRを有意に低下させるという有効性を示している。

【0062】

図23は、平均分子量が約660dに過ぎない(有効ULMWH画分として必要な分子量より実質的に低い) 二糖の画分が、二重応答動物のアレルギー性ヒジの抗原誘発気管支収縮を改善するのに無効であったことを示している。

【0063】

図7~14および17~22にデータを示してある実験においては、アレルギー性ヒジに投与した有効ULMWHの投与量は、各ULMWH画分について最低の有効量(投与量範囲の試験によって決定した)であった。異なるULMWHは、二重応答動物を治療する際の最小有効量レベルを変化させることが観察される。最小有効量は、抗原投与前に投与したCY-222とFRU-70の場合には約1.0mg/kgであったが、抗原投与後のFRU-70の場合、および六糖混合物吸入の場合、約0.5mg/kgであった。試験された有効ULMWHのうち平均分子量が最も小さい精製四糖は、精製六糖と同様に、抗原投与後に投与したときの最小有効量は0.062mg/kgであった。これらのデータは、平均分子量が最小限界の約1,000dに近い精製画分が、少なくとも二重応答動物を治療する際に、最も有効なULMWHであるということを示唆しているようである。観察される抗アレルギー活性および/または抗炎症活性に対して最適の構造ドメインおよび/または配列は、四糖であると思われる。

【0064】

実施例 2

二重応答動物のアレルギー性ヒツジに対する ULMWH の経口投与

この実験は、実験動物と評価法については、実施例 1 の方法にしたがって行った。

【0065】

一頭の二重応答動物のアレルギー性ヒツジに、アスカリス・スーム抗原による投与の 90 分前に、精製六糖（平均分子量 1, 998 ダルトン）2 mg / kg を経口投与した。基線（前記六糖を投与した時点）から抗原の投与後 8 時間までの SR_L に対する前記六糖による前治療の効果を図 24 に示す。抗原で投与したが ULMWH による前治療を行わなかった同じ二重応答動物のヒツジ（数日前に行った実験のヒツジ）の SR_L の変化を百分率も、比較のために図 24 に示してある。

【0066】

六糖で前治療した場合と前治療なしの場合（対照）について、基線およびヒツジが抗原の投与を受けた投与後の時点それぞれで測定した PD_{400} の値を図 25 に示す。

【0067】

実施例 3

二重応答動物のアレルギー性ヒツジに対する ULMWH の静脈内投与

第一の実験で、0. 25 mg / kg の精製六糖を、抗原投与の 1 時間前に静脈内投与し、第二の（対照）実験で、抗原を前治療なしで投与したことを除いて、別の二重応答動物のアレルギー性ヒツジで、実施例 2 の手順を実施した。前治療実験と対照実験における SR_L の変化の百分率を図 26 に示し、および基線と抗原投与後におけるこれら実験の PD_{400} の値を図 27 に示す。

【0068】

実施例 4

マウスにおける抗原誘発好酸球流入の予防

4 群の感作された実験室マウス（各群 $n = 3$ ）に、気管支肺胞洗浄検査を、抗原の投与 24 時間後に実施して、各群の好酸球流入値を測定した。エアゾール化し

た食塩水（プラセボ）または精製六糖を、以下の経路と以下の投与量で投与してマウスを治療した。すなわちエアゾール吸入⁸〔注⁸：この場合のマウス（ $n=3$ ）は、10mgの六糖を含有する9mlの静菌注射用蒸留水をエアゾール化して入れたチャンバー内に入れた。これらマウスに、前記エアゾールを約30分間吸入させた。〕、経口（100 μ g）および腹腔内（40 μ g）である。各治療群が行う好酸球流入の阻害百分率を、六糖を投与した後の気管支肺胞洗浄液について測定した好酸球流入のレベルと、食塩水群とを比較して求めた。

【0069】

マウスの3治療群の阻害百分率の平均値を図28に示してある。六糖を吸入また経口投与されたマウスは、好酸球流入が40～50%減少したが、一方、六糖を腹腔内投与されたマウスは、好酸球流入が約20%減少した。

【0070】

急性応答動物と二重応答動物に見られる市販のヘパリンの異なる作用（図2Aと2Bに示す）は、気道過敏症の場合、異なるシグナリング経路が関与していることを示しているのかもしれない。このことは、気道におけるマスト細胞の免疫学的反応の間は、IP₃が“急性応答動物”の支配的な活性経路であり、一方、非IP₃経路（例えばジアシルグリセロール／タンパク質キナーゼCなどの経路）は、“二重応答動物”で作動することを示唆している。

【0071】

後期応答とAHRは気道の著しい炎症と関連がある。気道粘膜の病理学的試験結果と気管支肺胞洗浄検査（BAL）は、この後期中に、好酸球、好中球および活性化されたT-リンパ球の流入を示した。好酸性カチオンタンパク質と主要塩基性タンパク質を含む好酸球由来の炎症メディエータの血漿およびBAL中のレベルが増大するのが、後期反応中に観察された。また、アレルゲンの投与に続いてTH₂型サイトカイン類（IL₄とIL₅）のアップレギュレーションも後期中に観察された。したがって、放出される前炎症メディエータ（pro-inflammatory mediator）（例えばロイコトリエン類、PAF、好酸性タンパク質など）および気管支粘膜中に局所的に産生されるサイトカイン類とあいまって、細胞炎症応答が、後期アレルギー性炎症と気管支収縮に中心的な役割をはたしている。

【0072】

AHR及びかかる気道炎症は、“抗アレルギー薬”（例えばクロモリンナトリウム）によるマストメディアイトの放出の防止またはグルココルチコステロイド類のような“抗炎症薬”の作用によって改善できる。“抗アレルギー薬”は予防薬として有効なだけであり、メディアイトの放出とAHRを予防することができる。これらの薬物は抗炎症活性を持っていないので、抗原に暴露された後に投与されると一般に効果がない。これとは対照的に、“抗炎症薬”は、投与が抗原に対する暴露の前であるか後であるかにかかわらず、抗原投与後のAHRおよび気道の炎症を弱めることができる。我々のデータは、ULMWHの作用が、グルココルチコステロイド類の抗炎症作用に類似していることを示唆している。

【0073】

有効ULMWHは、抗原の投与後に投与してもAHRを改善できるので、AHRに関連する喘息でない症状、例えば、慢性気管支炎、気腫およびのう胞性線維症を治療するのに有用であろう。

【0074】

さらに、コルチコステロイド類の抗炎症作用と類似の様式で、喘息のLPRを阻害する特定のULMWHの有効性に関する我々の知見からみて、有効ULMWHは、以下の症状を以下の投与経路によって治療するのに有用であろう。

【0075】

1. 肺以外の部位での後期の反応と炎症応答。

- (a) アレルギー性鼻炎
- (b) アレルギー性皮膚炎
- (c) アレルギー性結膜炎

2. 炎症応答が主要な役割を演ずる肺以外の部位の疾患。

- (i) 炎症性腸疾患
- (ii) リウマチ様関節炎などの膠原血管疾患
- (iii) 糸球体腎炎
- (iv) 炎症性皮膚疾患
- (v) サルコイドーシス

3. 投与経路

- (i) 気管支内
- (ii) 鼻腔内
- (iii) 眼内
- (iv) 局所
- (v) 経口
- (vi) 非経口 (IMまたはIV)

【0076】

しかし、本発明は、理論的または実際の生理学的または生化学的な機序または経路に、いかようにも制限または限定されることなく、後期アレルギー反応により特徴付けられる症状の治療方法または二重応答動物の哺乳類の患者の治療方法、および関与する実際の作用機序のいかににかかわらず上記方法に使用される組成物を含んでいることは強調しなければならない。

【0077】

したがって、本発明の各種目的を達成しかつ実用の条件に合致するよう十分適応された方法と組成物が提供されることを示してきた。

【0078】

各種の可能な実施態様によって上記発明を実施することができ、かつ上記実施態様を各種変更することができるので、本明細書に記載の事柄はすべて例示であると解釈すべきであり、かつ本発明を限定しないと解すべきである。

【0079】

新規であると主張しかつ特許証によって保護されることを要望する発明は、前記特許請求の範囲に記載されているものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】

2群のアレルギー性ヒツジすなわち急性応答動物で構成された一方の群と二重応答動物のもう一つ群に対する抗原の投与の効果を示すグラフである。各グループのデータは、抗原が誘発するSR_L（比肺抵抗）の変化の百分率の平均値±SEとして示し、そして抗原投与の前（基線）、抗原投与直後（P. A.）および抗

原投与後8時間までを示す。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

* = 二重応答動物と有意差あり ($P < 0.05$)

【図2】

図2A及び2Bは、2群のアレルギー性ヒツジすなわち急性応答動物 ($n = 8$) で構成された一方の群と二重応答動物 ($n = 13$) のもう一つの群の抗原誘発気管支収縮に対する、市販のヘパリン吸入による異なる効果を示す二つのグラフである。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図3】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、 5.0 mg/k g のフラグミンTM (平均分子量5,030ダルトン) 吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いでフラグミンで前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の SR_L ($\text{cm H}_2\text{O/L/秒}$) の平均値を示す。

【図4】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、フラグミンTM 5.0 mg/k g 吸入による前治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いでフラグミンで前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の基線ならびに抗原投与後24時間における PD_{400} (呼吸単位) の平均値 $\pm \text{SE}$ として示してある。

$\text{PD}_{400} = \text{SR}_L$ を基線の400%まで増大させるカルバコールの累積誘発投与量。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図5】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、CY-216 (平均分子量4,270ダルトン) 1.25 mg/k g 吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いでCY-216

で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の抗原に誘発された SR_i の変化の百分率の平均値 $\pm SE$ として示してある。

【図6】

アレルギー性ヒツジの AHR に対する、 $CY-216$ の 1.25 mg/kg 吸入による前治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで $CY-216$ で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の基線ならびに抗原投与後24時間における PD_{50} (呼吸単位) の平均値 $\pm SE$ として示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図7】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、 $ULMWH$ $CY-222$ (平均分子量2,355ダルトン) の 1.0 mg/kg 吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで $CY-222$ で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の抗原に誘発された SR_i の変化の百分率の平均値 $\pm SE$ として示してある。

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図8】

アレルギー性ヒツジの AHR に対する、 $CY-222$ の 1.0 mg/kg 吸入による前治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで $CY-222$ で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の基線および抗原の投与後24時間における PD_{50} (呼吸単位) の平均値 $\pm SE$ として示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図9】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、 $CY-222$ (1.0 mg/kg) 吸入による抗原投与後の治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後の SR_i 測定 (矢印) 直後に $CY-222$ を投与した数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与前、抗原投与直後 (時間ゼロ) および抗原投与後8時間までにおける抗原が誘

発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり (P < 0.05)

【図10】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、CY-222 (1.0 mg/kg) 吸入による抗原投与 (図9の矢印) 後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与の直後にCY-222が投与された数日後に抗原に暴露された動物の群の、基線および抗原投与後24時間におけるPD₅₀ (呼吸単位) の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり (P < 0.05)

【図11】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、ULMWH FRU-70 (平均分子量: 2,500ダルトン) (1.0 mg/kg) 吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いでFRU-70で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原に誘発されるSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり (P < 0.05)

【図12】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、FRU-70 (1.0 mg/kg) 吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いでFRU-70で前治療してから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、基線および抗原投与後24時間におけるPD₅₀ (呼吸単位) の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり (P < 0.05)

【図13】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、FRU-70 (0.5 mg/kg) 吸入による抗原投与後の治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後のSR_L測定 (矢印) 直後にFRU-70を投与した数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後 (時間ゼロ)、および抗原投与後8時間までに示した、

抗原が誘発するSRLの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図14】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、FRU-70 (0.5 mg/kg) 吸入による抗原投与 (図13の矢印) 後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後ただちにFRU-70が投与された後に、抗原に暴露された動物の群の基線および抗原の投与後24時間におけるPD₄₀₀ (呼吸単位) の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図15】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、六糖混合物 (平均分子量1,930ダルトン) (0.5 mg/kg) 吸入による抗原投与後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後のSRL測定 (矢印) 直後に六糖混合物を投与した数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後 (時間ゼロ) および抗原投与後8時間までに示した、抗原が誘発するSRLの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図16】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、六糖混合物 (0.5 mg/kg) 吸入による抗原投与 (図15の矢印) 後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後ただちに上記六糖混合物が投与されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、基線および抗原投与後24時間におけるPD₄₀₀ (呼吸単位) の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図17】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、精製六糖 (平均分子量1,998ダルトン) (0.062 mg/kg) 吸入による抗原投与後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで

抗原の投与後のSR_L測定（矢印）の直後に六糖が投与されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後（時間ゼロ）および抗原の投与後8時間までに示した、抗原が誘発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図18】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、精製六糖（0.062mg/kg）吸入による抗原投与（図17の矢印）後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原投与後ただちに前記六糖を投与されて数日後の、基線および抗原の投与後24時間におけるPD₄₀₀（呼吸単位）の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図19】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、精製四糖（平均分子量1,290ダルトン）（0.062mg/kg）吸入による抗原投与後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後のSR_L測定（矢印）の直後に四糖が投与されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後（時間ゼロ）および抗原の投与後8時間までに示した、抗原が誘発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり ($P < 0.05$)

【図20】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、精製四糖（0.062mg/kg）吸入による抗原投与（図19の矢印）後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後ただちに四糖が投与されてから数日後の、基線と抗原投与後24時間におけるPD₄₀₀（呼吸単位）の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり ($P < 0.05$)

【図21】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、八糖（平均分子量2,480ダルトン）（0.25mg/kg）吸入による抗原投与後の治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで抗原の投与後のSR_L測定（矢印）の直後に前記八糖混合物が投与されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後（時間ゼロ）および抗原の投与後8時間までに示した、抗原が誘発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

* = 対照と有意差あり（ $P < 0.05$ ）

【図22】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、八糖（0.25mg/kg）吸入による抗原投与（図21の矢印）後の治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せず、次いで抗原投与の後ただちに八糖を投与されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、基線および抗原投与後24時間におけるPD₅₀（呼吸単位）の平均値±SEとして示してある。

+ = 基線と有意差あり（ $P < 0.05$ ）

【図23】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、二糖（平均分子量660ダルトン）（1.0mg/kg）吸入による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで二糖で前治療されてから数日後に、抗原に暴露された動物の群の、抗原投与の前、抗原投与の直後（時間ゼロ）および抗原の投与後8時間までに示した、抗原が誘発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

【図24】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、精製六糖（平均分子量1,998ダルトン）（2.0mg/kg）経口投与による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで六糖で前治療されてから数日後に、抗原に暴露された単一のヒツジの、抗原が誘発するSR_Lの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

【図25】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、精製六糖(2.0mg/kg)経口投与による前治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで六糖で前治療されてから数日後に、抗原に暴露された単一のヒツジの基線および抗原の投与後24時間におけるPD₄₀₀(呼吸単位)の平均値±SEとして示してある。

【図26】

二重応答動物のアレルギー性ヒツジの抗原誘発気管支収縮に対する、精製六糖(平均分子量1,998ダルトン)(0.25mg/kg)静脈内投与による前治療の効果を示すグラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで六糖で前治療されてから数日後に、抗原に暴露された単一のヒツジの抗原が誘発するSR_iの変化の百分率の平均値±SEとして示してある。

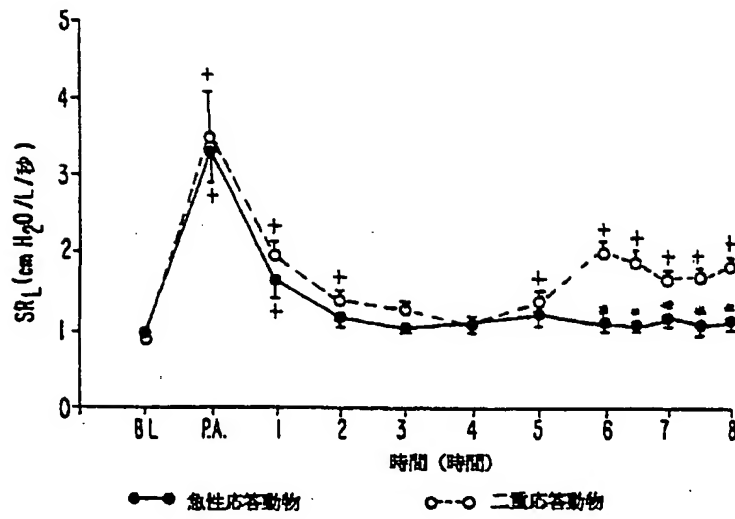
【図27】

アレルギー性ヒツジのAHRに対する、精製六糖(0.25mg/kg)静脈内投与による前治療の効果を示す棒グラフである。データは、まず薬物で治療せずに、次いで六糖で前治療されてから数日後に、抗原に暴露された単一のヒツジの基線および抗原の投与後24時間におけるPD₄₀₀(呼吸単位)の平均値±SEとして示してある。

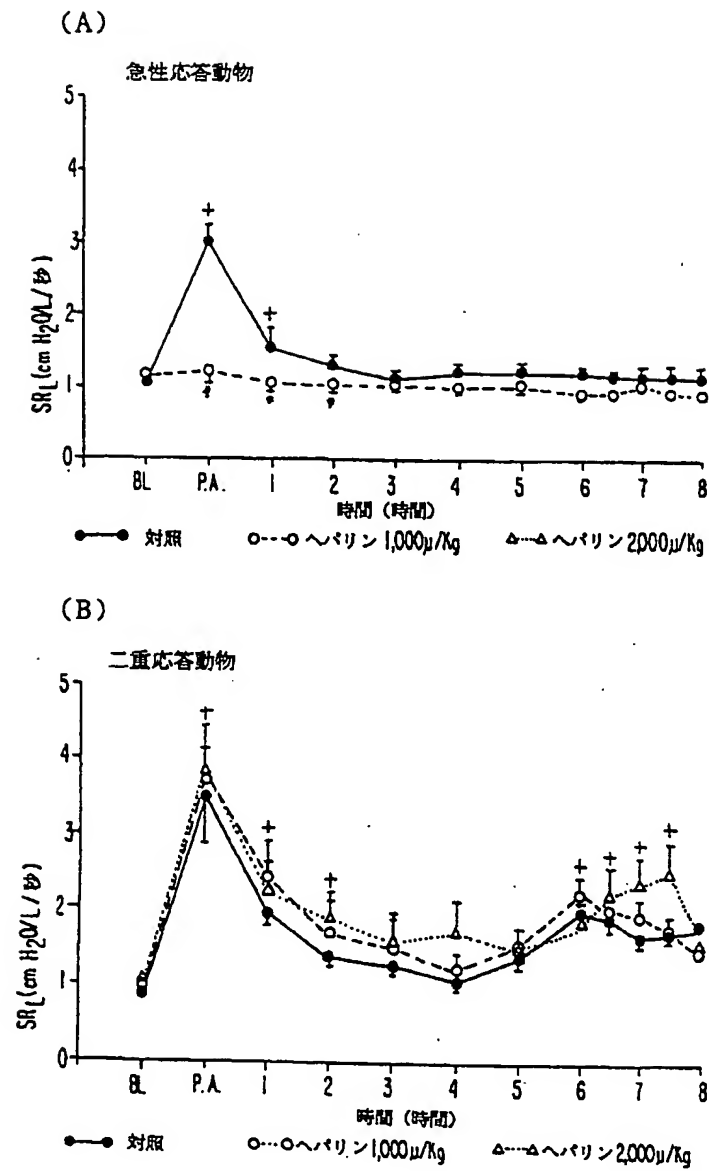
【図28】

精製六糖をそれぞれ吸入、経口および腹腔内投与された3群のマウスの、気管支肺胞洗浄液中への抗原誘発好酸球流入を防止する比較活性を示す棒グラフである。

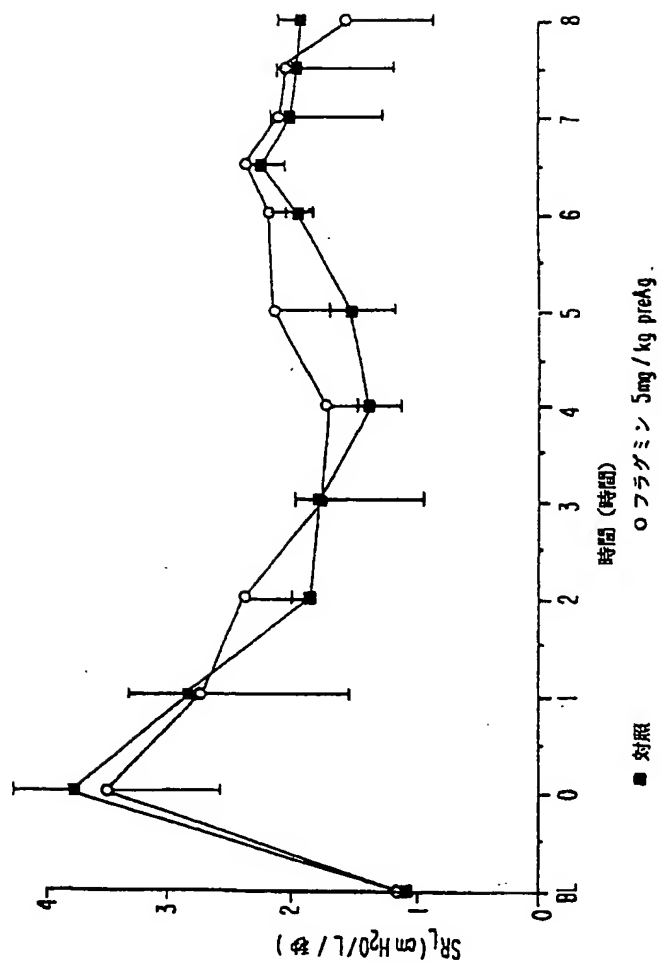
【図1】



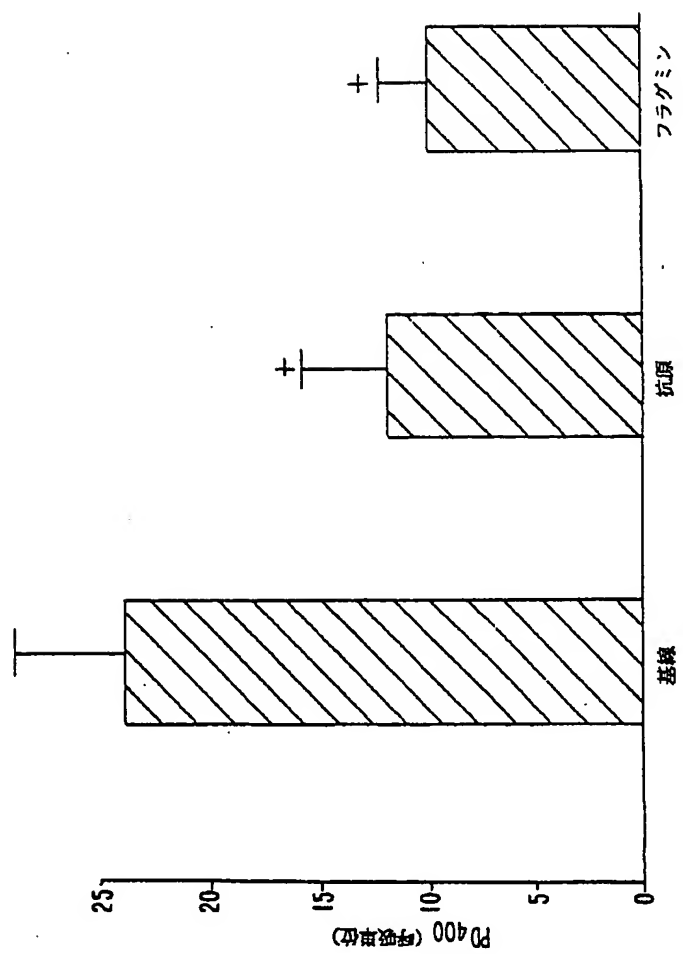
【図2】



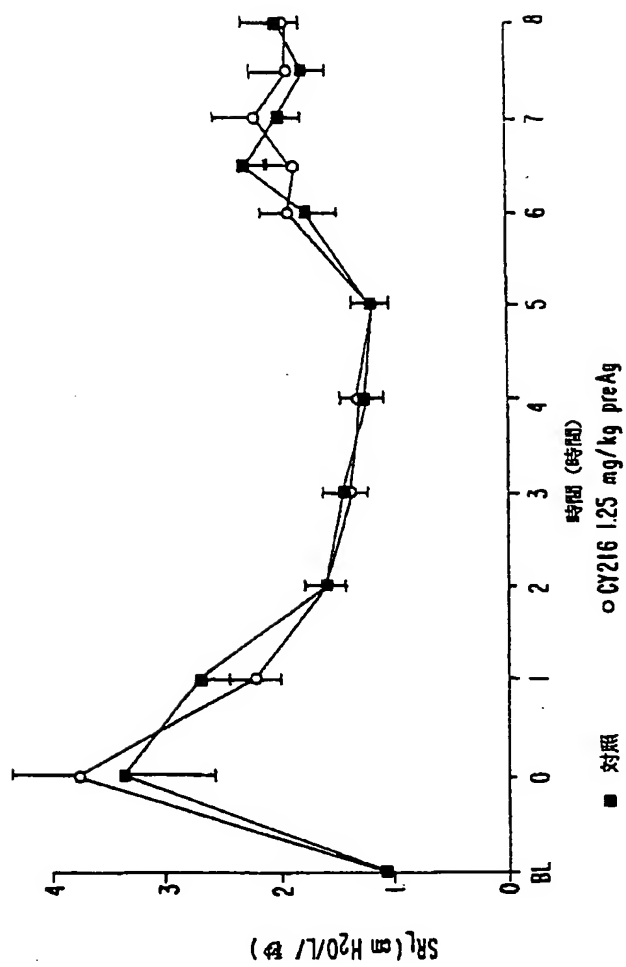
【図3】



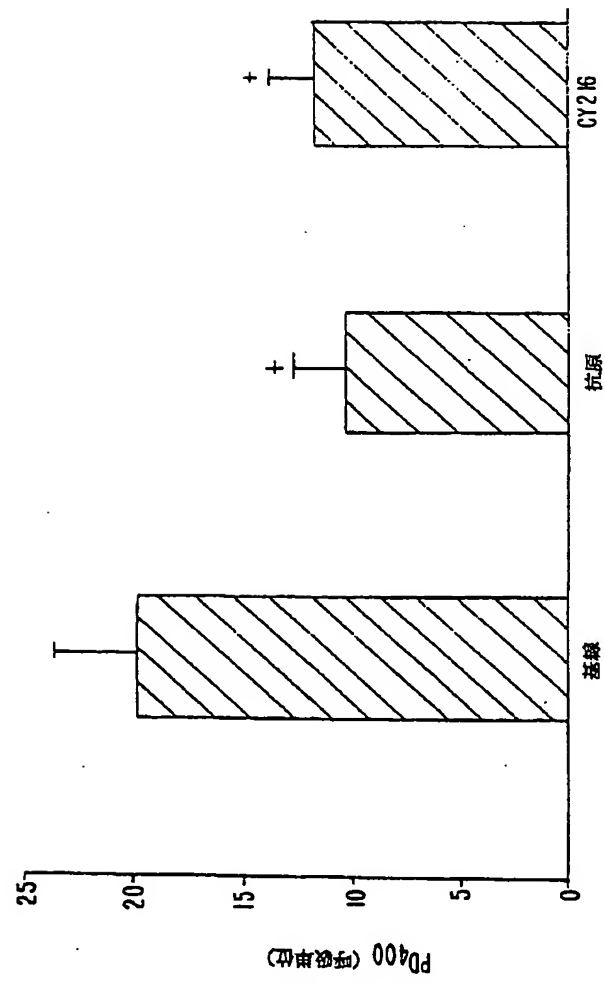
【図4】



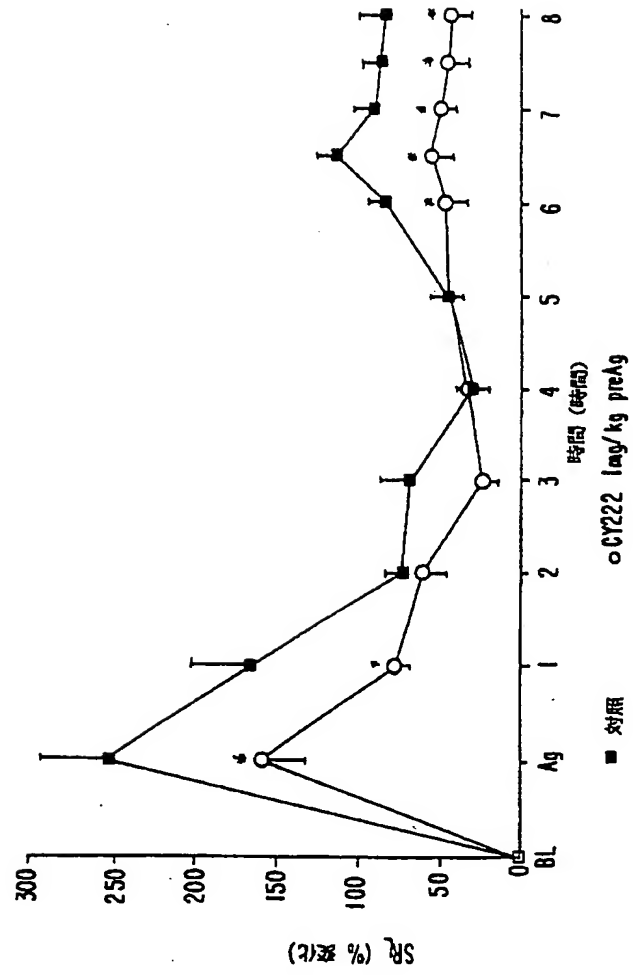
【図5】



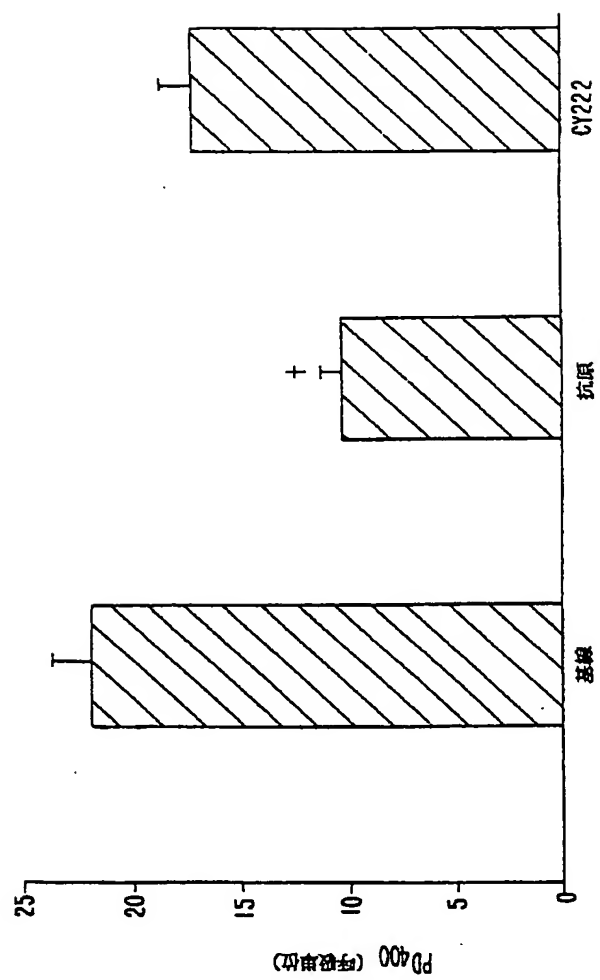
【図6】



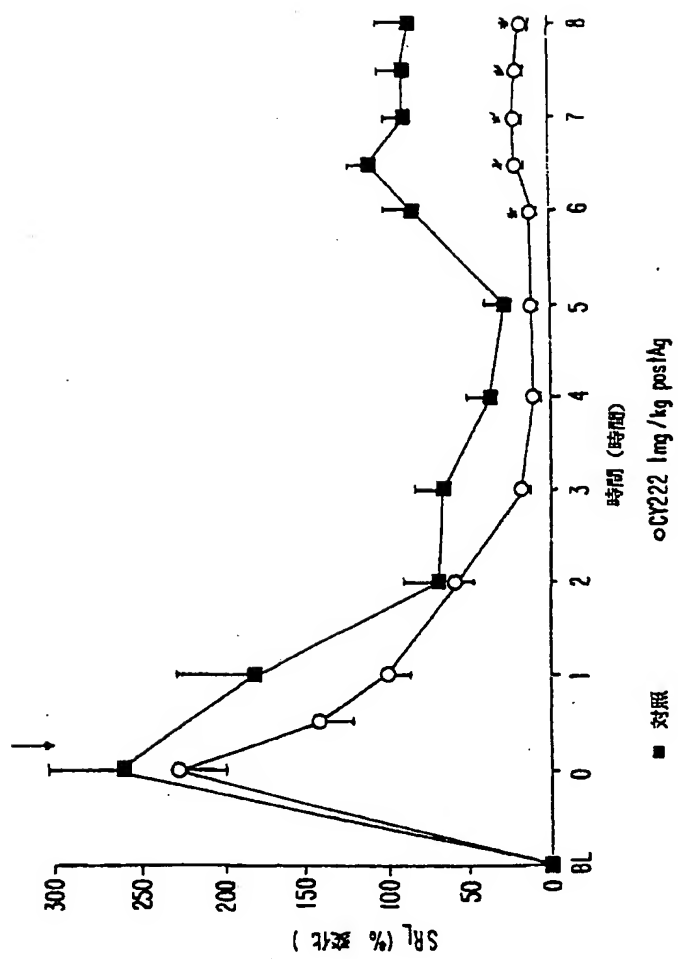
【図7】



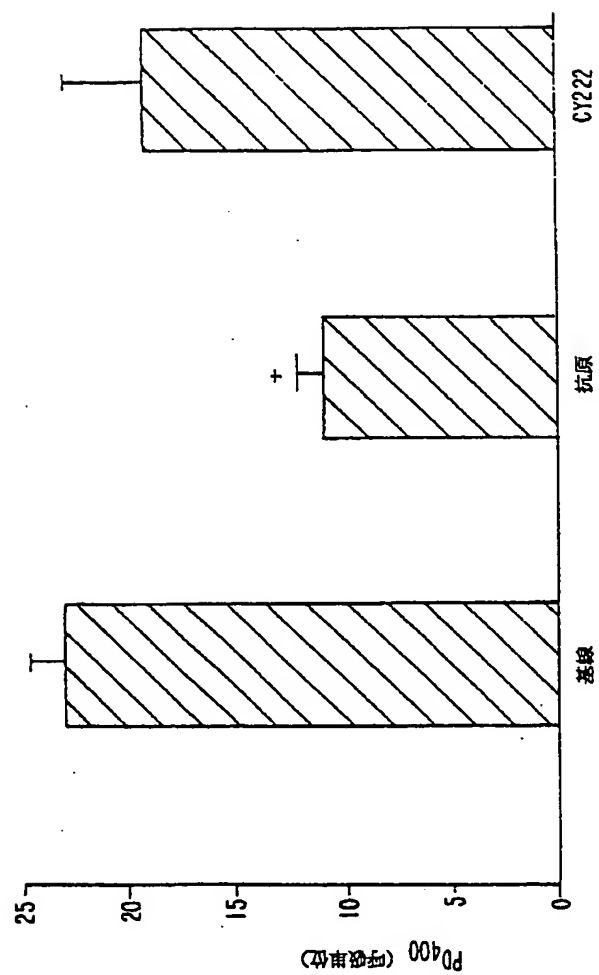
【図8】



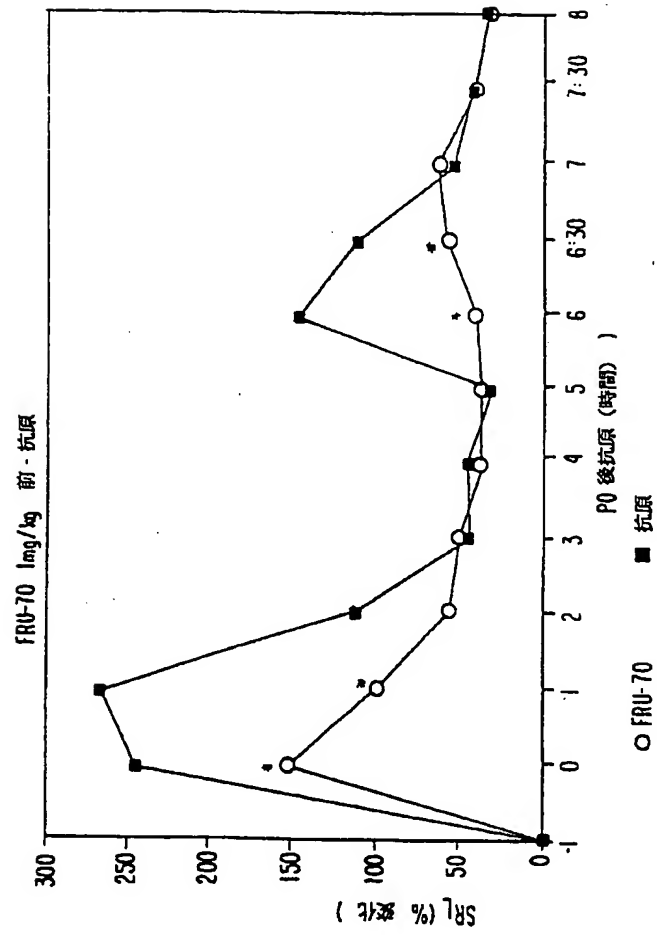
【図9】



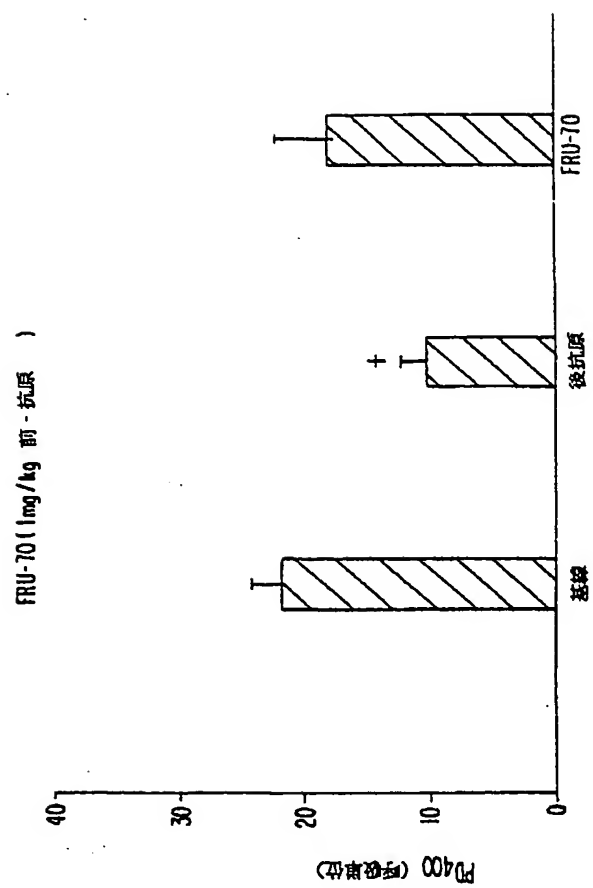
【図10】



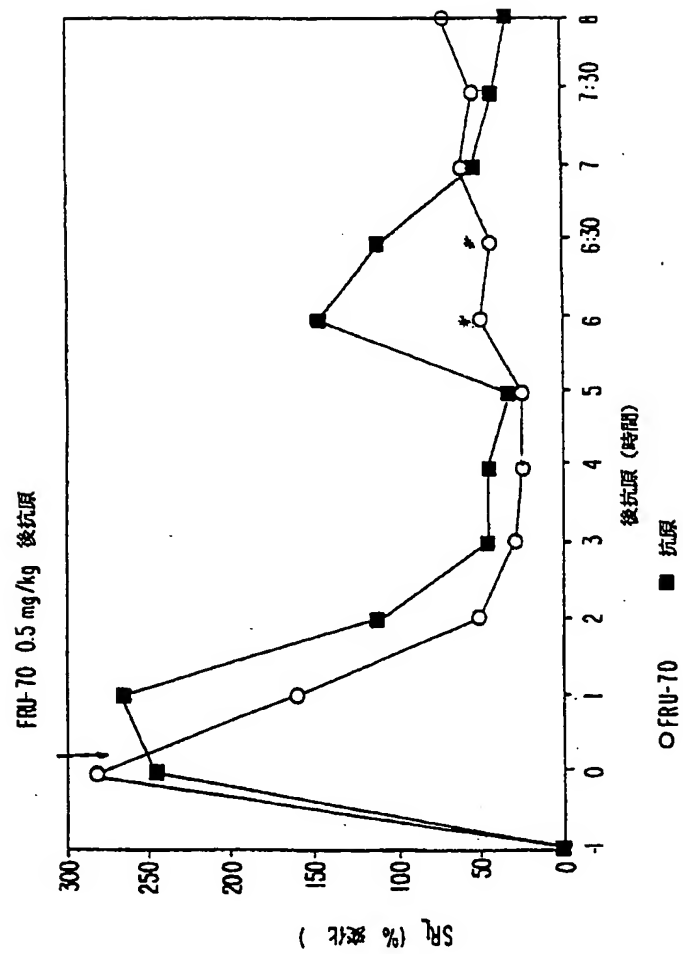
【図11】



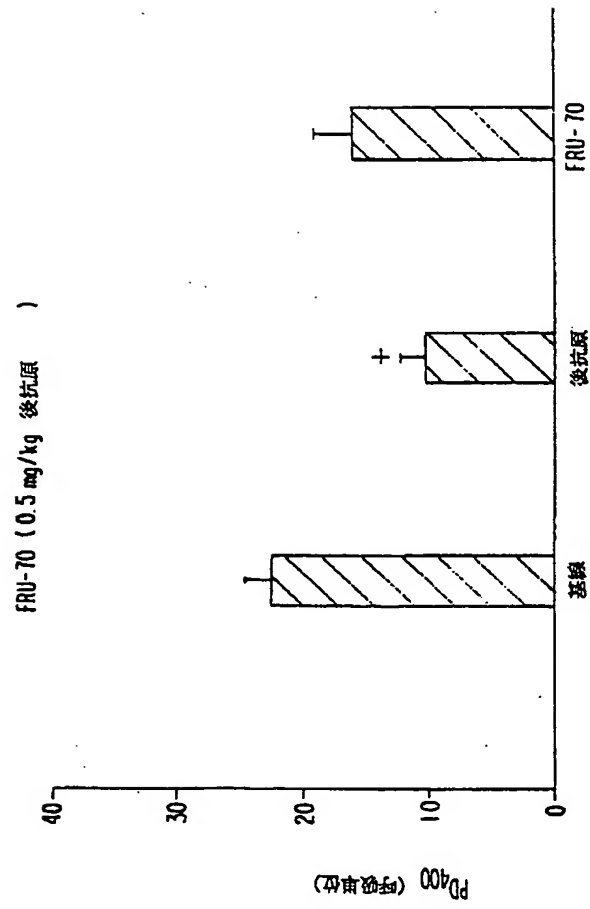
【図12】



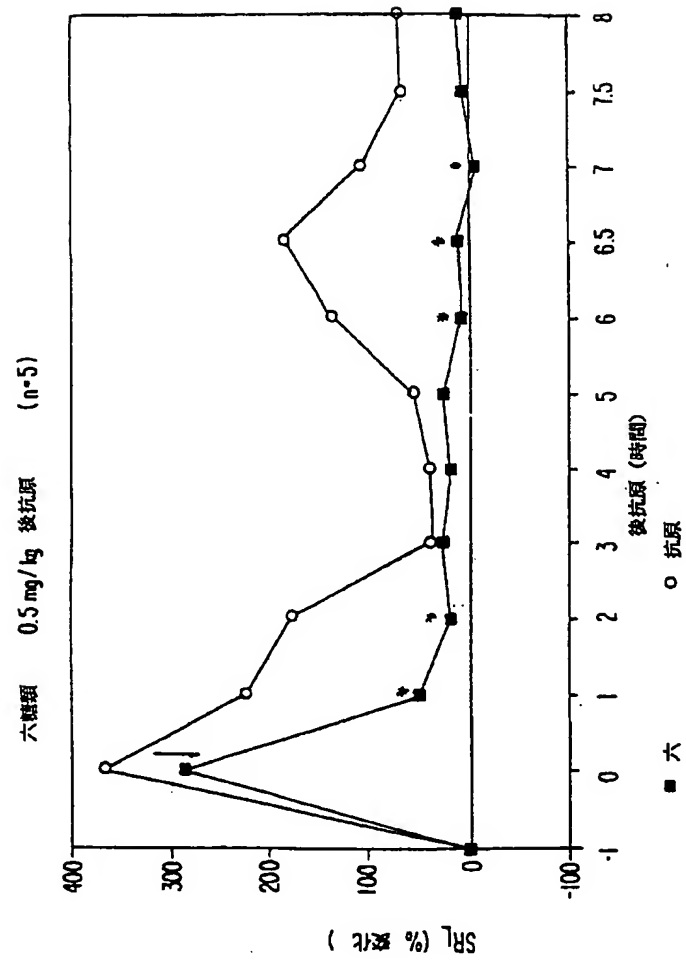
【図13】



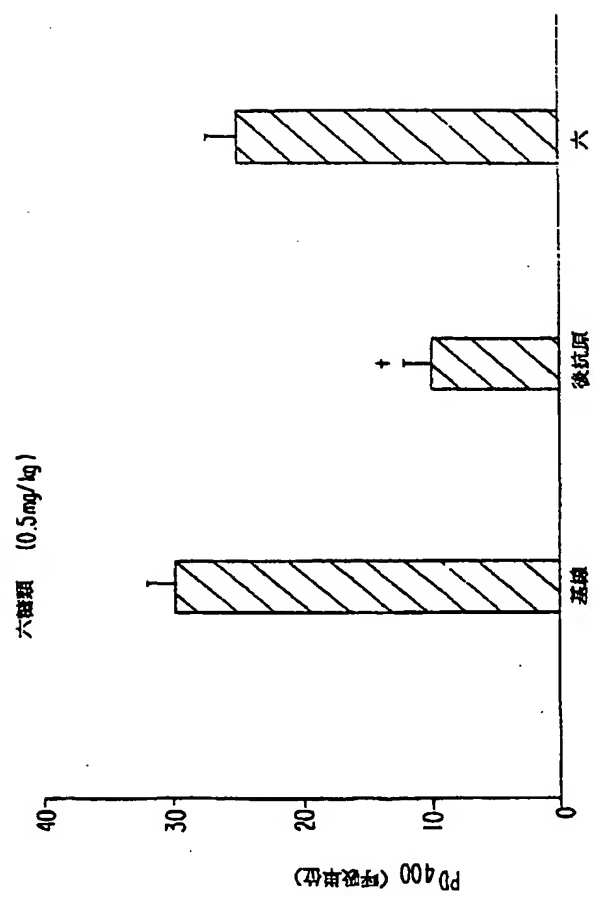
【図14】



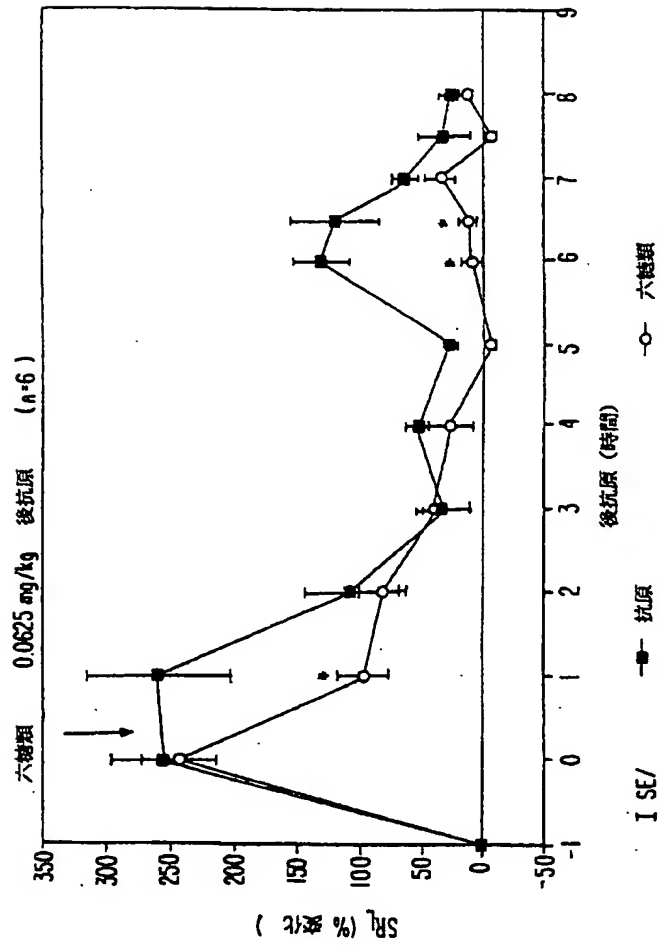
【図15】



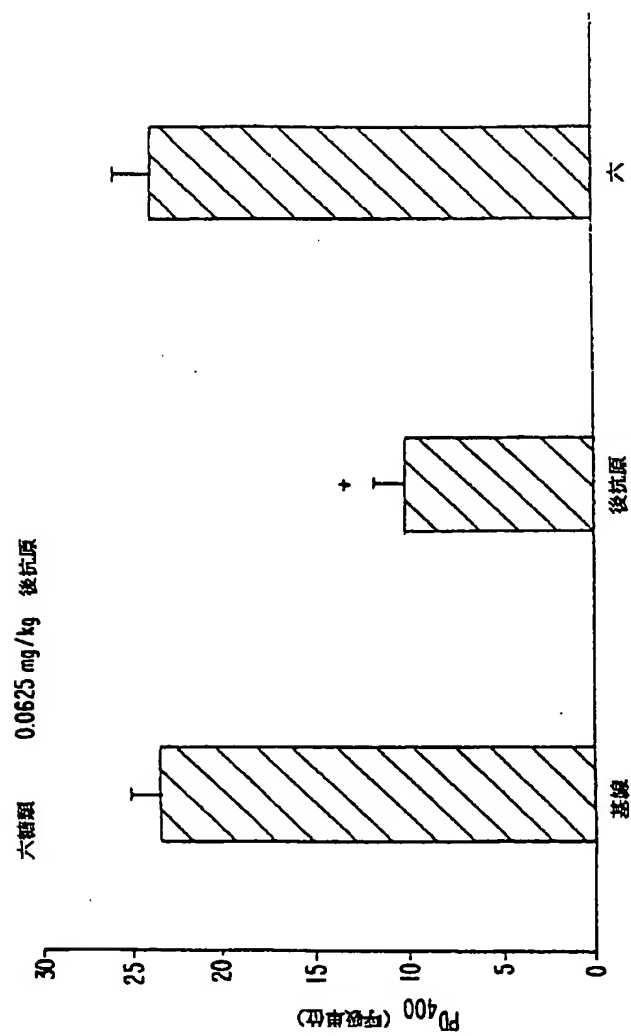
【図16】



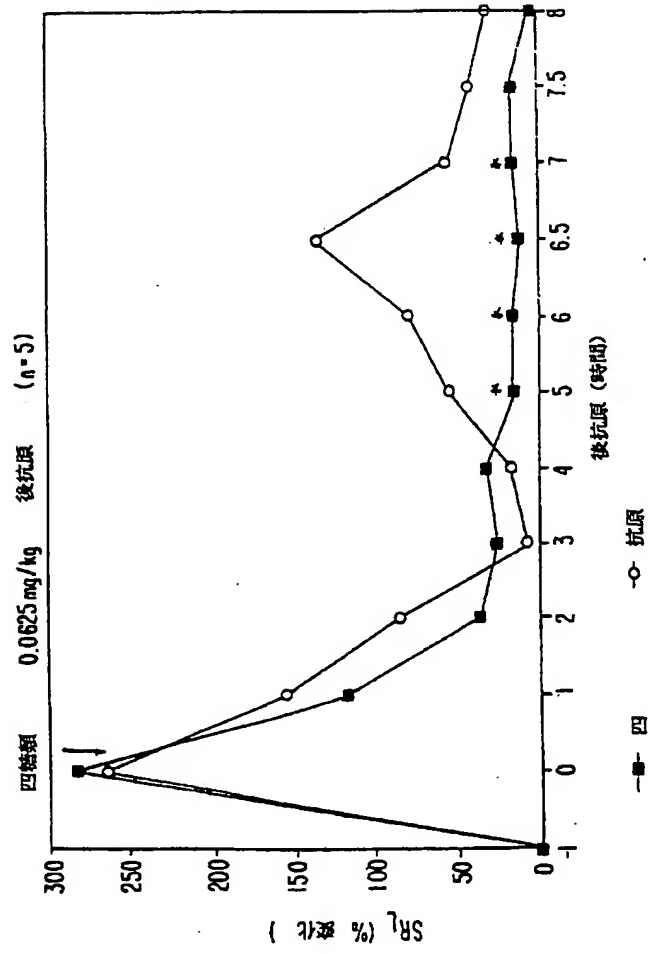
【図17】



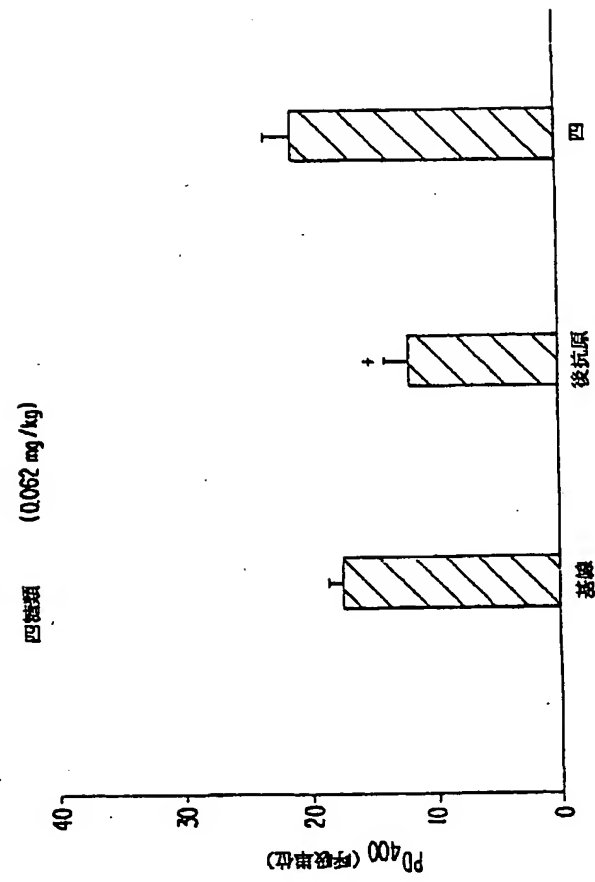
【図18】



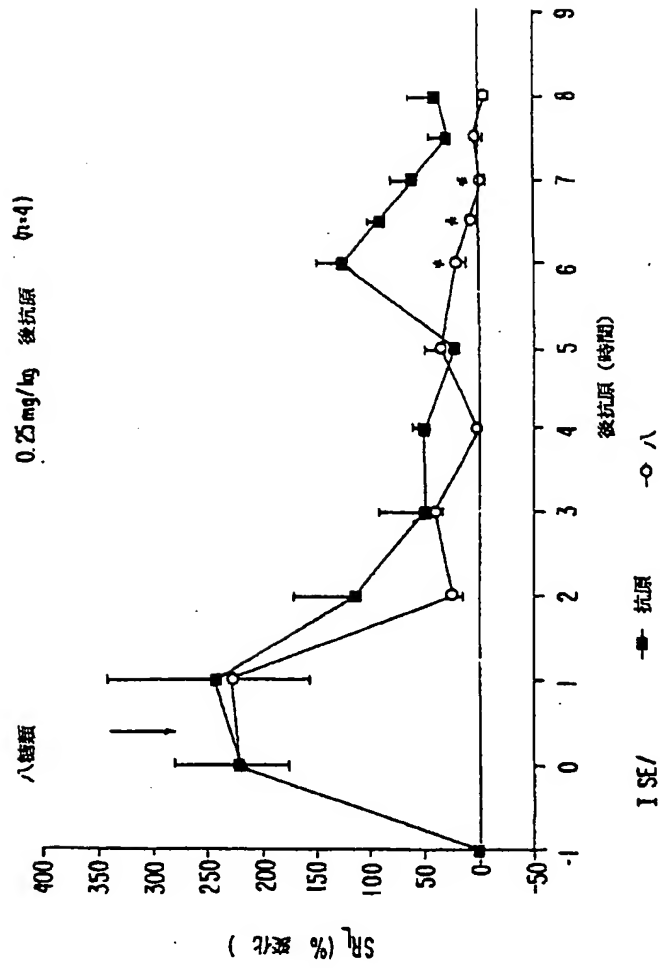
【図19】



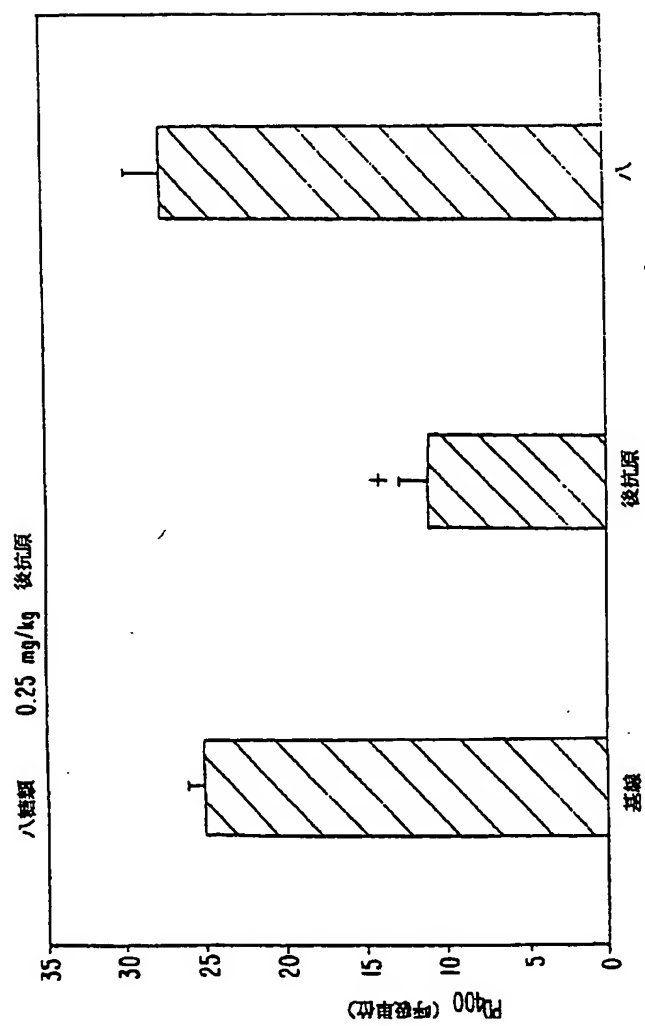
【図20】



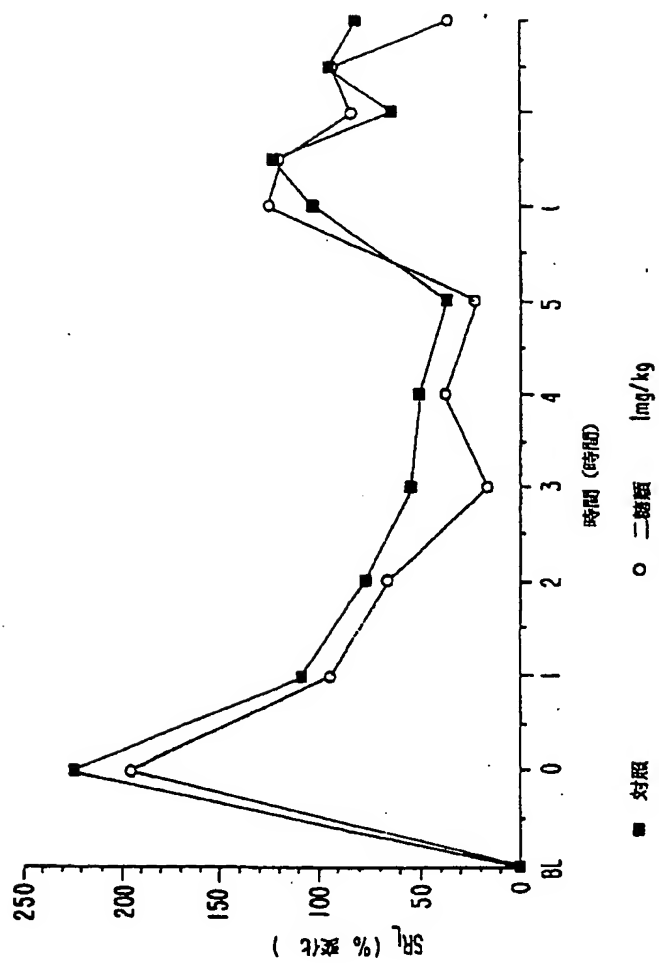
【図21】



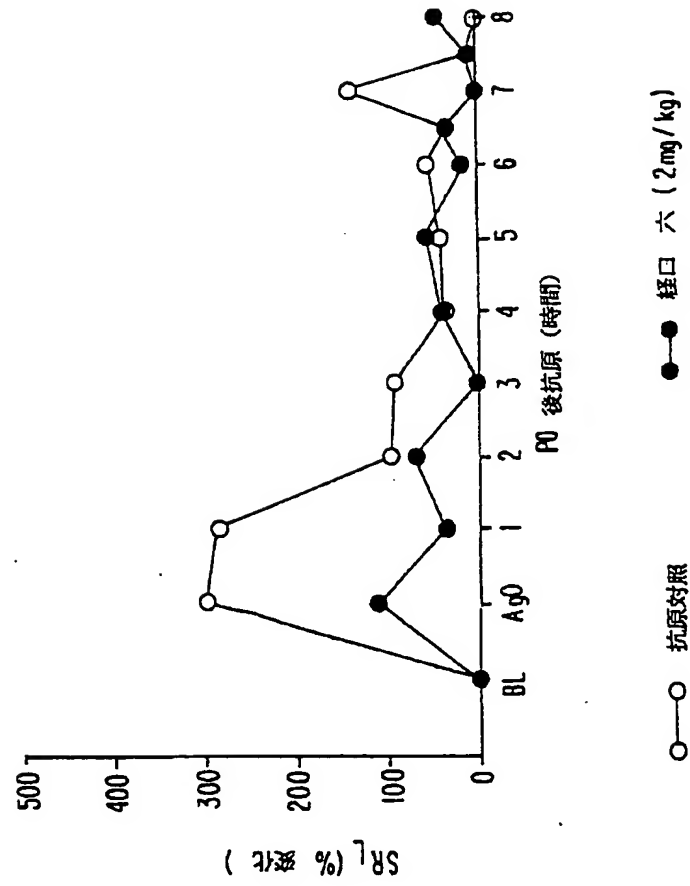
【図22】



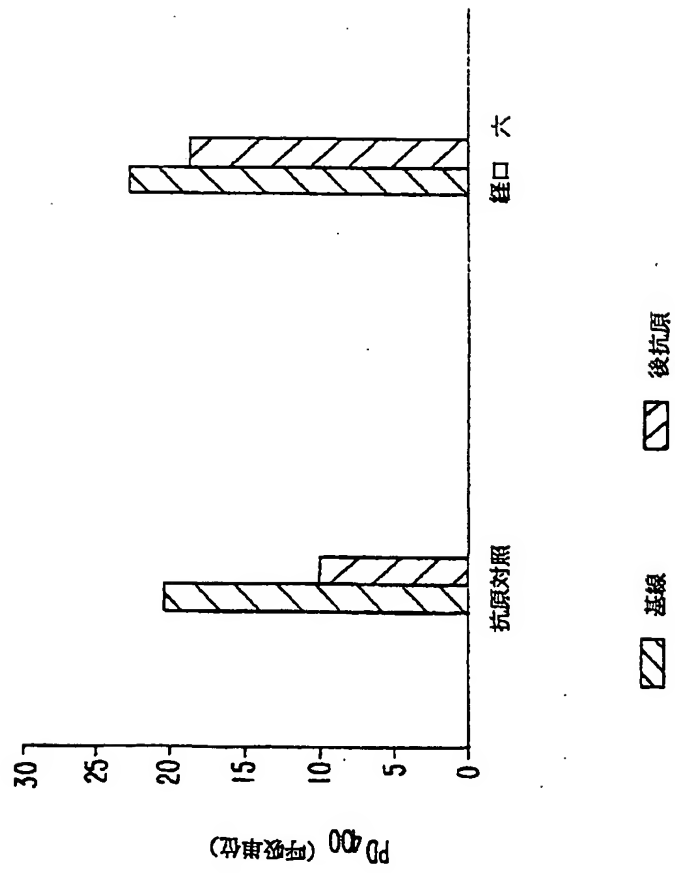
【図23】



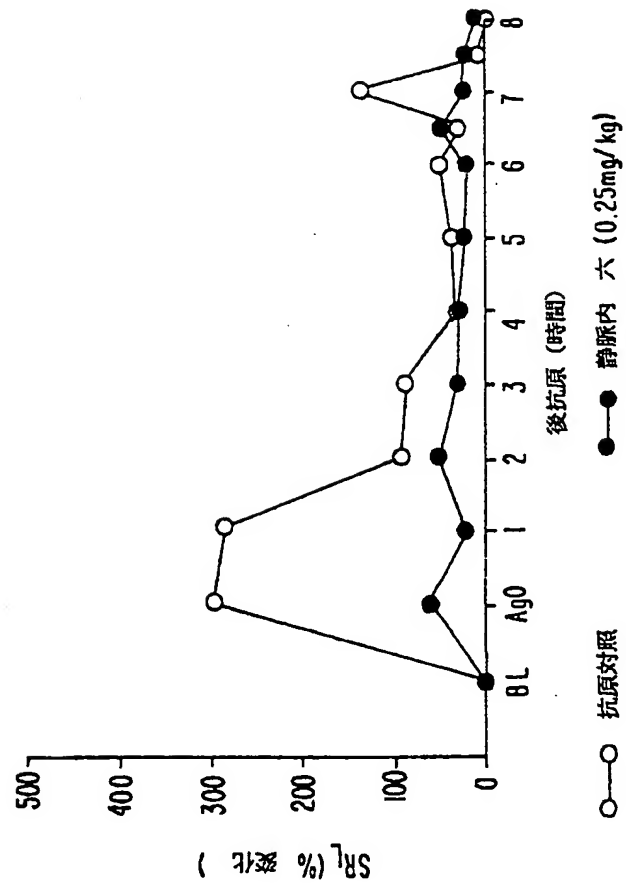
【図24】



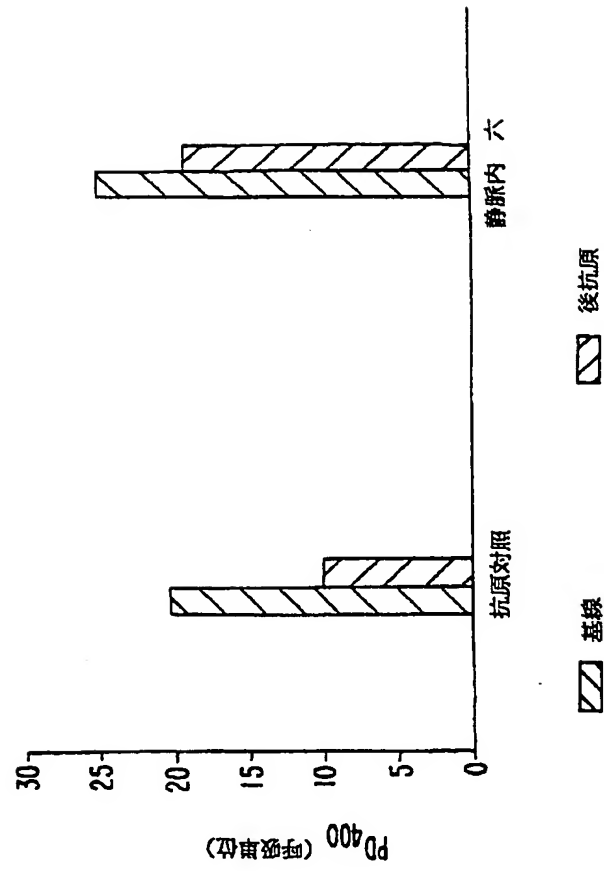
【図25】



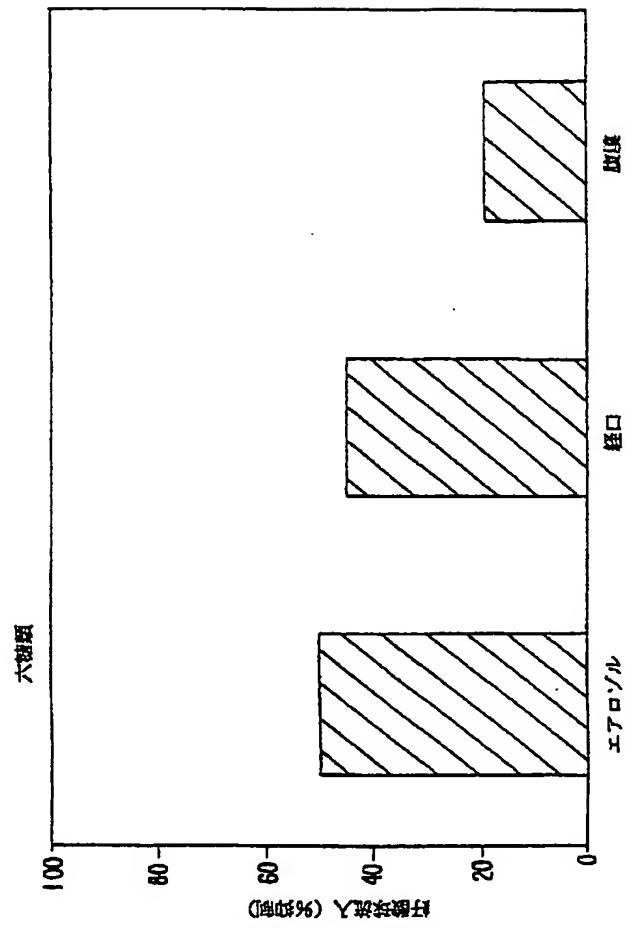
【図26】



【図27】



【図28】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US98/16111		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6) : A61K 9/12 US CL : 424/45 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/45 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
Y	WO 94/18988 A2 (VON ARNIM) 01 September 1994, see entire document.	1-60		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to confirm the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document made up of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to confirm the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document made up of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to confirm the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document made up of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 21 SEPTEMBER 1998		Date of mailing of the international search report 19 OCT 1998		
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer <i>Barbara Lawrence for</i> Raj Bawa, Ph.D. Telephone No. (703) 305-1235		

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	識別記号	F I	ターム (参考)
A 6 1 K	9/20	A 6 1 K	9/20
	9/48		9/48
A 6 1 P	9/00	A 6 1 P	9/00
	11/00		11/00
	11/02		11/02
	13/12		13/12
	17/00		17/00
	27/14		27/14
	29/00		29/00
	1 0 1		1 0 1
	37/08		37/08
	43/00		43/00

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, K E, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, D K, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, L V, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, U Z, VN, YU, ZW

Fターム(参考) 4C076 AA11 AA22 AA24 AA29 AA31
AA36 AA49 AA53 BB01 BB11
BB24 BB25 BB27 CC03 DD67
FF32
4C086 AA01 AA02 EA02 EA26 MA01
MA02 MA04 MA05 MA13 MA17
MA23 MA35 MA37 MA41 MA43
MA52 MA55 MA56 MA58 MA59
MA66 NA05 NA06 NA13 ZA33
ZA34 ZA36 ZA59 ZA66 ZA81
ZB11 ZB13 ZB15 ZC61